الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الطب البشري

قسم الأمراض الباطنة

تواتر أليل APOE ε4 في سورية وعلاقته بالاستعداد لداء ألزهايمر

The frequency of APOE ε4 allele in Syria and its relationship with predisposition to Alzheimer's disease

بحث علمي أعد لنيل درجة الدكتوراه في الأمراض العصبية

المشرف الرئيسي

الأستاذ الدكتور محمد شحادة آغا

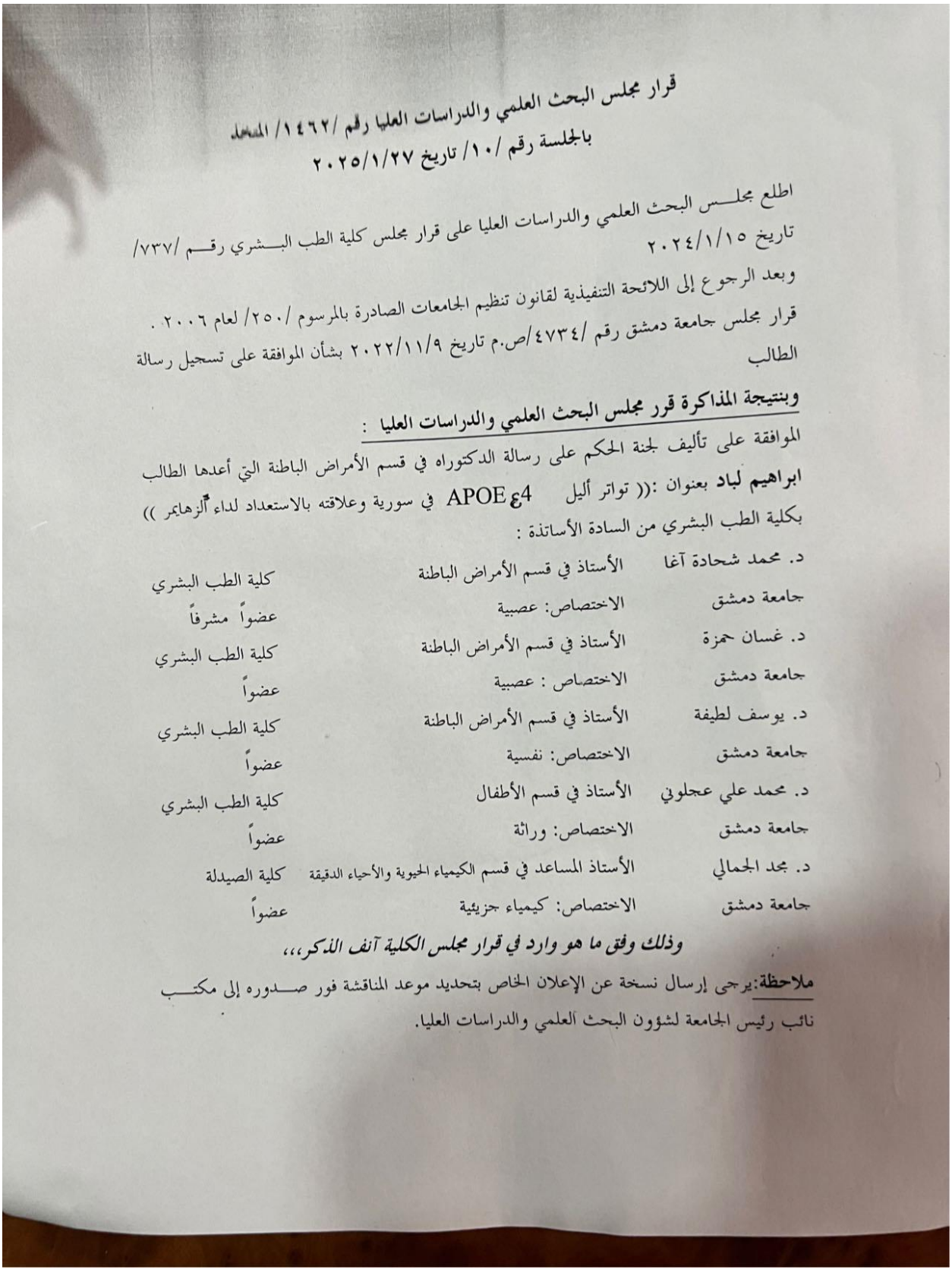
(كلية الطب البشري)

المشرف المشارك

الأستاذة الدكتورة لمى يوسف

(كلية الصيدلة)

إعداد طالب الدكتوراه: ابراهيم ميشال لباد



قرار مجلس البحث العلمي والدراسات العليا رقم /١٤٦٢/ المنعقد
بالجلسة رقم /١٠/ تاريخ ٢٠٢٥/١/٢٧

اطلع مجلـــس البحث العلمي والدراسات العليا على قرار مجلس كلية الطب البـــشري رقـــم /٧٣٧/ تاريخ ٢٠٢٤/١/١٥

وبعد الرجوع إلى اللائحة التنفيذية لقانون تنظيم الجامعات الصادرة بالمرسوم /٢٥٠/ لعام ٢٠٠٦ .

قرار مجلس جامعة دمشق رقم /٤٧٣٤/ص.م تاريخ ٢٠٢٢/١١/٩ بشأن الموافقة على تسجيل رسالة الطالب

وبنتيجة المذاكرة قرر مجلس البحث العلمي والدراسات العليا :

الموافقة على تأليف لجنة الحكم على رسالة الدكتوراه في قسم الأمراض الباطنة التي أعدها الطالب **ابراهيم لباد** بعنوان :((تواتر أليل APOE ε4 في سورية وعلاقته بالاستعداد لداء ألزهايمر)) بكلية الطب البشري من السادة الأساتذة :

د. محمد شحادة آغا	الأستاذ في قسم الأمراض الباطنة	كلية الطب البشري
جامعة دمشق	الاختصاص: عصبية	عضواً مشرفاً
د. غسان حمزة	الأستاذ في قسم الأمراض الباطنة	كلية الطب البشري
جامعة دمشق	الاختصاص : عصبية	عضواً
د. يوسف لطيفة	الأستاذ في قسم الأمراض الباطنة	كلية الطب البشري
جامعة دمشق	الاختصاص: نفسية	عضواً
د. محمد علي عجلوني	الأستاذ في قسم الأطفال	كلية الطب البشري
جامعة دمشق	الاختصاص: وراثة	عضواً
د. مجد الجمالي	الأستاذ المساعد في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة	كلية الصيدلة
جامعة دمشق	الاختصاص: كيمياء جزيئية	عضواً

وذلك وفق ما هو وارد في قرار مجلس الكلية آنف الذكر،،،

ملاحظة: يرجى إرسال نسخة عن الإعلان الخاص بتحديد موعد المناقشة فور صـــدوره إلى مكتـــب نائب رئيس الجامعة لشؤون البحث العلمي والدراسات العليا.

الإهداء Dedication

أتقدم بالإهداء أولاً إلى والديّ... قدوتي في الحياة، أصحاب الفضل الأول والأخير في تحقيق هذا الإنجاز من خلال دعمهم وتشجيعهم لي.

أساتذتي الأكارم والسادة المشرفين وأعضاء الهيئة التدريسية الذين لم يبخلوا يوماً في إعطاء معلومة وأي فكرة قيمة.

زملائي ورفاق الدرب والذين بوجودهم هان كلُ عسيرٍ مررنا به.

الشكر Acknowledgement

الشكر لله الذي أنار لي الدرب، وفتح لي أبواب العلم وأمدني بالصبر والإرادة لإتمام هذه الرسالة.

خالص الشكر والامتنان لقدوتي وأستاذي القدير الأستاذ الدكتور محمد شحادة آغا على دعمه وإرشاداته المستمرة، أفتخر بأن تكون هذه الأطروحة بإشراف قامة علمية كبيرة مثله.

يحتاج الباحث أثناء رحلة بحثه لأصحاب الخبرة العلمية للأخذ بيده نحو النجاح وإنجاز العمل البحثي، خالص الشكر والتقدير للأستاذة الدكتورة لمى يوسف التي أضاءت الطريق وذللت الصعاب.

جزيل الشكر والامتنان للأساتذة أعضاء لجنة الحكم الذين أغنوا الرسالة بملاحظاتهم القيمة وعلى رقي تعاملهم وحسن لُقياهم.

لا يسعني وأنا أضع اللمسات الأخيرة في هذه الدراسة إلا أن أتقدم بالشكر إلى كل من كانت له مساهمة بإنجاز هذا العمل.

السيرة الذاتية **Curriculum vitae (CV)**

- الاسم: ابراهيم ميشال لباد
- الجنسية: العربية السورية
- مكان وتاريخ الولادة: حمص 1991/6/21
- العنوان: جديدة عرطوز البلد، بناء أفران نور الشام
- البريد الالكتروني: dribrahimlabbad@outlook.com

- المراحل الدراسية:

حاصل على الثانوية العامة السورية عام 2008

حاصل على إجازة في الطب البشري من جامعة حمص 2014، بتقدير جيد جداً ومعدل قدره 81.29%

حاصل على شهادة دراسات عليا في الأمراض العصبية من جامعة دمشق عام 2020، بتقدير جيد جداً ومعدل قدره 81.8%

تصريح

الاسم الكامل: ابراهيم ميشال لباد

عنوان البحث: تواتر أليل APOE ε4 في سورية وعلاقته بالاستعداد لداء ألزهايمر

لا يوجد أي جزء من الأطروحة تم اقتباسه بالكامل من عمل علمي آخر، أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في جامعة دمشق أو أية جامعة أخرى أو أي معهد تعليمي داخل أو خارج القطر.

لم يتم قبض أي مبلغ مادي أو مكافأة عينية، سواء بشكل مباشر أو غير مباشر، مقابل القيام بعمل يمس بجوهر الأطروحة أو نتائجها. أتعهد بأنني لم أقل إلا الحقيقة، ولم أخف شيئاً.

دمشق في / / ابراهيم ميشال لباد

قائمة المحتويات List of Contents

قائمة الجداول **List of Tables** ..... **X**

قائمة الأشكال **List of Figures** ..... **XI**

قائمة الاختصارات **List of Abbreviations** ..... **XIII**

الملخص **Abstract** ..... **XVI**

1- تمهيد **Preface** **1**

1-1- خلفية البحث **Background** **1**

1-2 الإشكالية البحثية ومبررات البحث **2**

1-3 هدف البحث **Aim** **2**

1-4 مناهج البحث وأدواته **2**

1-5 أهمية البحث **3**

1-6 حدود البحث **3**

الدراسات النظرية والمرجعية **4**

2- داء ألزهايمر **5**

2-1- وبائيات **Epidemiology** **5**

2-2- عوامل الاختطار **Risk Factors** **6**

2-2-1 عوامل الاختطار الغير قابلة للتعديل **6**

2-2-2 عوامل الاختطار القابلة للتعديل **7**

2-3- الآلية المرضية **7**

2-4- الأعراض السريرية 10

2-5 النهج التشخيصي 11

2-5-1 التشخيص السريري 11

2-5-2 الاستقصاءات التشخيصية 14

2-6- المعالجة في داء ألزهايمر 16

3- صميم البروتين الشحمي **APOE** 19

3-1- البروتين 19

3-2- الجين المرمزة ل **APOE** 21

3-3- مفهوم التعددات الشكلية 22

3-4- التعددات الشكلية لجين **Apoe** 24

3-5- علاقة **Apoe** مع داء ألزهايمر 25

3-6- علاقة **Apoe** مع أدواء أخرى 30

4- مسوغات البحث 30

منهج البحث وإجراءاته 32

5- المواد 33

6- الطرائق 34

6-1- تصميم الدراسة **Study Design** 34

6-2- جمهرة الدراسة **Study Population** 35

6-3- الاعتيان **Sampling** 36

6-4- التنميط الجيني **Genotyping** **37**

6-4-1- استخلاص **DNA** الجينومي **37**

6-4-2- قياس تراكيز الدنا المستخلص **38**

6-4-3- تفاعل ال **PCR** **38**

6-4-4- الرحلان الكهربائي **Electrophoresis** **42**

6-4-5- السلسلة **Sequencing** **43**

6-4-6- التحليلات الإحصائية **43**

7- النتائج **45**

7-1- الخصائص الديموغرافية والسريرية لجمهرة الدراسة **46**

7-2- المقايسات المخبرية لجمهرة الدراسة **47**

7-3- نتائج التنميط الجيني **50**

7-3-1- نتائج استخلاص **DNA** الجينومي **50**

7-3-2- نتائج تفاعلات ال **PCR** والرحلان الكهربائي **50**

7-3-3- نتائج السلسلة **50**

7-4- تواتر التعددات الشكلية **51**

7-5- توازن هاردي واينبرغ **HWE** **54**

7-6- علاقة الأنماط الجينية بشحميات وغلوكوز المصل **55**

8- المناقشة **Discussion** **58**

8-1- نتائج تفاعل ال PCR والرحلان **59**

8-2- تواتر أليل ε4 والتعددات الشكلية الأخرى **59**

8-3- علاقة شحميات المصل بداء ألزهايمر **63**

8-4- علاقة غلوكوز المصل بداء ألزهايمر **64**

8-5- علاقة ألائل ال Apoe مع الشحميات والغلوكوز في المصل **65**

9- الخاتمة **67**

9-1- الاستنتاجات **Conclusions** **68**

9-2- المقترحات **Suggestions** **69**

10- المراجع **References** **70**

11- الملاحق **Appendix** **82**

قائمة الجداول List of Tables

الجدول 1	معايير الدليل التشخيصي والإحصائي للاضطرابات العقليّة، الطبعة الخامسة Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5) لتشخيص داء ألزهايمر	11
الجدول 2	فحص الحالة العقلية المصغر.	13
الجدول 3	العلاجات الدوائية المستعملة في تحسين الوظيفة الإدراكية في داء ألزهايمر.	16
الجدول 4	العتائد المستخدمة في البحث	33
الجدول 5	الأجهزة المستخدمة في البحث	33
الجدول 6	البرمجيات المستخدمة في الدراسة	34
الجدول 7	الخصائص الديموغرافية والسريرية للمرضى والشواهد مع مقارنتها بين الذراعين	47
الجدول 8	تصنيف أفراد جمهرة الدراسة (المرضى والشواهد) بناءً على القيم الطبيعية الحدية للمتثابتات المخبرية المدروسة (شحميّات وغلوكوز المصل).	48
الجدول 9	مقارنة تواتر الألائل في الجين المرمزة ل Apoe بين مجموعتي الشواهد والمرضى.	52
الجدول 10	مقارنة تواتر الأنماط الجينية للتعدد الشكلي في الجين المرمزة ل Apoe بين مجموعتي المرضى والشواهد.	53
الجدول 11	مقارنة الأنماط الجينية والألائل لدى الإناث والذكور في الجمهرة المدروسة بين مجموعتي المرضى والشواهد	54
الجدول 12	توازن هاردي واينبرغ لعينة الدراسة	55
الجدول 13	علاقة الأنماط الجينية مع شحميات وغلوكوز المصل عند كامل الجمهرة.	55
الجدول 14	مقارنة شحميات الدم وغلوكوز المصل بين المرضى والشواهد وفق الأنماط الجينية ل Apoe.	56
الجدول 15	تواترات أليل ε4 في دول الشرق الأوسط	60
الجدول 16	مقارنة تواتر الأنماط الجينية بين دراستنا ودراسات من الدول العربية	61

قائمة الأشكال List of Figures

الشكل 1	خارطة تبين معدلات انتشار داء الزهايمر وأنواع العتاهة الأخرى في العالم	6
الشكل 2	مواقع وآلية قص طليعة بروتين النشواني APP وتشكيل لويحات الأميلوئيد بيتا Aβ في داء ألزهايمر	8
الشكل 3	نتائج التشريح المرضي لخزعة من حصين البحر لمريض مصاب بداء ألزهايمر، A تظهر تراكم لويحات الأميلوئيد بيتا (الأسهم)، B تظهر بروتين التاو (الأسهم)	9
الشكل 4	التطور السريري لداء ألزهايمر	11
الشكل 5	فروق تصوير PET بين الشخص الطبيعي ومريض داء ألأزهايمر	15
الشكل 6	تصوير الرنين المغناطيسي (زمن T1) في داء ألزهايمر. (A)محوري، (B)سهمي، (C) إكليلي، تظهر ضمور الحصين والفص الصدغي الإنسي، الضمور القشري المنتشر، وتوسع الجهاز البطيني.	16
الشكل 7	الشذوذات التصويرية المرتبطة بالأميلوئيد ARIA، في A تظهر وذمة قفوية ثائية الجانب يسرى أكثر من يمنى، أمّا في B فيظهر نزف كتلي مستبطن قفوي ايمن مع وذمة محيطة به.	17
الشكل 8	ثلاث آليات يزيد من خلالها Apoe ε4 خطر الإصابة **ب** ARIA وهي: 1) انهيار الوحدة الوعائية العصبية، 2) زيادة الالتهاب العصبي، و3) زيادة ترسب الأميلويد بيتا **و**CAA.	19
الشكل 9	آلية عمل صميم البروتين الشحمي E في استقلاب الشحميات.	20
الشكل 10	بنية صميم البروتين الشحمي E	21
الشكل 11	توضع الجين Apoe على الصبغي 19 وبنيته.	22
الشكل 12	خارطة تبين انتشار الأليل Apoe ε4 عالمياً.	25
الشكل 13	الآليات المحتملة لعلاقة APOE4 بداء ألزهايمر.	28
الشكل 14	علاقة أليل Apoe ε4 بداء ألزهايمر عند إثنيات مختلفة.	29
الشكل 15	نتائج البحث عن جين Apoe في قاعدة بيانات المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية NCBI.	39
الشكل 16	التحقق من ارتباط زوج المرئسات الخاص بالكشف عن ال Apoe مع التسلسل المراد تضخيمه باستخدام أداة ال Blast.	40
الشكل 17	التحقق من نوعية ارتباط زوج المرئسات مع التسلسل المطلوب باستخدام أداة ال MFEprimer والتي تبيّن وجود منتج وحيد بطول 384 زوج أساس.	41
الشكل 18	توزّع المرضى جغرافياً على المحافظات السوريّة.	46
الشكل 19	توزع عينة الدراسة (المرضى والشواهد) وفق أرقام الغلوكوز الصيامي بعد تصنيفهم إلى مشخصين بالداء السكري أم لا.	49
الشكل 20	صورة لهلامة أغاروز بعد ترحيل منتجات تضخيم تفاعل ال PCR، مع مقارنة المنتجات بسلم عياريّات من رتبة ال 100 زوج أساس (100 bp) لأطوال قطع الدنا.	50

الشكل 21	الأنماط الجينية الثلاثة من خلال المخطط الاستشرابي Chromatogram لتسلسل الدنا في الإكسون الرابع لجين APOE.	51

قائمة الاختصارات List of Abbreviations

الاختصار	المقابل باللغة الإنكليزية	المقابل باللغة العربية
AAN	American Academy of Neurology	الجمعية الأميركية لعلم الأعصاب
Aβ	Amyloid Beta	الأميلوئيد بيتا
AD	Alzheimer's Disease	داء ألزهايمر
APOE	Apolipoprotein E	صميم البروتين الشحمي
APP	Amyloid Precursor Protein	طليعة بروتين النشواني
ARG	Arginine	أرجنين
ARIA	Amyloid Related Imaging Abnormalities	التبدلات الشعاعية المتعلقة بالأميلوئيد
BBB	Blood Brain Barrier	الحاجز الوعائي الدماغي
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool	أداة بحث الارتصاف المحلي الأساسي
BP	Base Pair	زوج أساس
CAA	Cerebral Amyloid Angiopathy	اعتلال الأوعية الدماغية النشواني
CBD	Corticobasal Degeneration	التنكس القشري القاعدي
CES	Capillary Electrophoresis Sequencing	السلسلة بطريقة الرحلان الكهربي الشعري
CRP	C Reactive Peptide	البروتين الارتكاسيC
CSF	Cerebral Spinal Fluid	السائل الدماغي الشوكي
CYS	Cysteine	سستئين
DMSO	Dimethyl Sulfoxide	ثنائي ميثيل سلفوكساید
DNA	Deoxyribonucleic Acid	الحمض النووي الريبوزي منزوع الأكسجين

DSM 5	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition	معايير الدليل التشخيصي والإحصائي للاضطرابات العقلية، الطبعة الخامسة
EDTA	Ethylene-Diamine-Tetraacetic Acid	ثنائي أمين الإيتيلين رباعي حمض الأسيتيك
FDA	Food and Drug Administration	إدارة الغذاء والدواء
FTD	Frontotemporal Dementia	العتاهة الجبهية الصدغية
GWAS	Genome Wide Association Studies	دراسات الترابط الجينومي الكامل
HDL-C	High Density Lipoprotein Cholesterol	الكولسترول ضمن البروتين الشحمي مرتفع الكثافة
HWE	Hardy-Weinberg Equilibrium	توازن هاردي-واينبرغ
LDL-C	Low Lipoprotein Cholesterol	الكولسترول ضمن البروتين الشحمي منخفض الكثافة
LDL-R	Low Density Lipoprotein Receptor	مستقبل البروتين الشحمي منخفض الكثافة
LOAD	Late Onset Alzheimer's Disease	داء ألزهايمر متأخر الحدوث
LRP1	Ldl Receptor Related Protein 1	البروتين المرتبط بمستقبلات البروتين الشحمي منخفض الكثافة
MCI	Mild Cognitive Impairment	الضعف الإدراكي المعتدل
MMSE	Mini Mental Status Examination	فحص الحالة العقلية المصغر
NCBI	National Institute for Biotechnology Information	قاعدة بيانات المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية
NFT	Neurofibrillary Tangles	تشابكات الليفيات العصبية
NMDA	N-Methyl D-Aspartate	**N**-ميثيل-**D**-أسبارتات
PCR	Polymerase Chain Reaction	تفاعلات البوليميراز التسلسلي
PET	Positron Emission Technology	التصوير المقطعي بالإصدار البوزيتروني

PSEN	Presinillin	مورثة البريسنيلين
P tau	Phosphorylated Tau	التاو المفسفر
SNP	Single Nucleotide Polymorphism	التعدد الشكلي مفرد النيكلوتيد
TAE	Tris base, acetic acid and EDTA	
TC	Total Cholesterol	الكولسترول الكلي
TG	Triglycerises	الغليسيريدات الثلاثية
TSH	Thyroid Stimulating Hormone	الهرمون الحاث للغدة الدرقية

الملخص

خلفية Background: يُعد داء ألزهايمر السّببُ الرئيسيُّ للعتاهة لدى البالغين. تسعى الدراسات الحديثة إلى تحديد الآليات الإمراضيّة على المستوى الجزيئيّ ومحاولة عكسها. يُعد أليل Apoe ε4 العامل الوراثي الأهم في داء ألزهايمر متأخر الحدوث، لكن اختلفت نتائج الدراسات باختلاف الأعراق والإثنيات.

هدف البحث Aim: نظراً لعدم توفر معلومات في سورية عن تواتر الأليل Apoe ε4 وعلاقته بداء ألزهايمر فهدفت دراستنا لاستعراف تواتر الأليل لدى جمهرة من مرضى ألزهايمر السوريين ومقارنته بالتواتر لدى مجموعة عمرية مماثلة من الأفراد غير المصابين بألزهايمر.

الطرائق Methods: دراستنا من نمط حالة–شاهد، وشملت 60 مريض ألزهايمر و60 شاهداً من الفئة العمرية ذاتها. تم تشخيص المرضى وفق معايير الدليل التشخيصي والإحصائي للاضطرابات العقليّة، الطبعة الخامسة Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM–5) لتشخيص داء ألزهايمر. تم إجراء مقايسات مخبرية لكلٍ من شحميات الدم (الكولسترول الكلي، البروتين الشحمي منخفض الكثافة LDL، البروتين الشحمي مرتفع الكثافة HDL، الغليسريدات الثلاثية) والغلوكوز الصيامي. نُمّطت منتجات تفاعل البوليميراز التسلسلي PCR النوعيّة جينياً بطريقة السّلسلة المعيارية. قمنا بتحليل البيانات وفق العديد من الاختبارات الإحصائية المناسبة باستخدام الحزمة الإحصائية للعلوم الاجتماعية (SPSS) Statistical Package for Social Sciences في إصدارها رقم 23.

النتائج Results: بلغ عدد جمهرة الدراسة 120 فرداً، (60 مريض و60 شاهد). تراوح المجال العمري من 65–103 سنة بمتوسط حسابي قدره 77.8 عاماً وانحراف معياري بلغ 8.1 عاماً. شكّلت الإناث غالبية الجمهرة بنسبة قدرها 61.7% في حين لم تتجاوز نسبة الذكور 38.3 %. تقاربت قيم الكولسترول الكلي،

و LDL، و HDL، والغليسريدات الثلاثية المصليّة بين مجموعتي المرضى والشواهد (P= 0.327، P= 0.267 ، P= 0.843، P= 0.353) على الترتيب. أما بالنسبة للغلوكوز الصيامي فكان لدى لمرضى قيم أعلى مقارنةً بالشواهد وبفارق إحصائي معتد به (P= 0.015). بلغ تواتر الأليل ε4 12.8% لدى المرضى بينما كان منعدماً لدى الشواهد، أما الأليل ε3 فبلغ تواتره 85.1% لدى المرضى و97.4% لدى الشواهد، أما الأليل ε2 فكان تواتره 2.1% لدى المرضى و2.6% لدى الشواهد. كان النمط الجيني ε3/ε3 الأشيع لدى الشواهد (94.7%) والمرضى (70.2%)، في حين كان النمط الجيني ε2/ε3 الأقل شيوعاً بتواتر لم يتجاوز 4.3% من المرضى و5.3% من الشواهد. بلغ تواتر النّمط الجيني ε3/ε4 25.5% من المرضى و0% من الشواهد.

الاستنتاجات Conclusions: برهنت نتائجنا ارتباط داء ألزهايمر لدى قرابة ربع المرضى بوجود نسخة واحدة من أليل الخطورة Apoe ε4، في حين كان تواتر هذا الأليل معدوماً لدى السوريين غير المصابين بداء ألزهايمر. تُعد الدراسة الحالية الأولى من نوعها التي تجرى في سورية لتحرّي تواتر أليل Apoe لدى السوريين وعلاقته بداء ألزهايمر.

الكلمات المفتاحيّة: ألزهايمر، صميم البروتين الشحمي، تعدد شكلي مفرد النيكلوتيد، تواتر، أليل، سوريين.

1-تمهيد Preface

1-1- خلفيّة البحث

تُعد الأمراض العصبيّة التنكسيّة تحدّياً كبيراً للأطباء والباحثين، نظراً لعدم وجود علاجات ناجعة لتلك الأمراض حتى تاريخه، لذلك أصبحت المعرفة الدقيقة للآلية الإمراضية وعوامل الخطورة واستعراف الأشخاص مرتفعي الخطورة حاجة أساسية.

يأتي داء ألزهايمر Alzheimer's Disease (AD) في مقدمة الأمراض التنكسيّة التي تصيب الدماغ لدى البشر حيث يشكّل نحو 70% من حالات الخرف عالمياً(Plassman et al., 2007). تضم عوامل الخطر لحدوث داء ألزهايمر كلاً من التقدّم في السن، والبدانة، وارتفاع التوتر الشرياني، وهبوط الضغط الانتصابي، والاكتئاب، ورضوض الرأس، والضغط النفسي، والسكري(Hörder et al., 2018)، مع ملاحظة وجود دور للوراثة، حيث وثّقت العديد من الدراسات زيادة في اختطار الإصابة بداء ألزهايمر بين أقارب الدرجة الأولى للمرضى وفي التوائم الحقيقية(Karch & Goate, 2015)، ولهذا كان من الضرورة بمكان التحرّي عن العوامل الجينية المسؤولة. بينت دراساتٌ سابقة في جمهرات سكانية عديدة أن أليل Apoe ε4 يشكّل عامل الخطر الجيني الأهم في داء ألزهايمر متأخر الحدوث Late Onset AD (LOAD) حيث يزيد وجود الأليل Apoe ε4 بشكل متخالف الألائل heterozygote خطر الإصابة بضعفين إلى ثلاثة أضعاف، ويزيد خطر الإصابة ليصل إلى نحو عشر أضعاف لدى متماثلي الألائل homozygote (Karch & Goate, 2015).

1-2- الإشكاليّة البحثيّة ومبررات البحث

ظهرت أولى البيّنات على ارتباط أليل Apoe ε4 مع داء ألزهايمر عام 1993(Corder et al., 1993)، وتوالت الدراسات التي تؤيّد هذا الارتباط، لكن مع وجود تباين جليٍّ في قوة الارتباط باختلاف الأعراق والإثنيّات، حيث كان هذا الارتباط ضعيفاً لدى الأفارقة الأميركيين واللاتينيين بالمقارنة مع اليابانيين والقوقازيين(Belloy et al., 2019). يظهر تباين نتائج الدراسات أن التآثر بين العوامل الوراثيّة والبيئيّة هامٌ لتطوّرِ داء ألزهايمر وأن وجود Apoe ε4 لوحدِهِ لا يكفي لتطوّر المرض.

1-3- هدف البحث

في ظلّ غياب المعلومات عن تواتر أليل Apoe ε4 لدى السوريين، فقد صُمّمَت دراستنا لاستعراف تواتر هذا الأليل لدى عينة من مرضى داء ألزهايمر متأخر البدء Late Onset Alzheimer's Disease (LOAD) وعينة من الأصحاء من الفئة العمريّة نفسها، وذلك بهدف تحري العلاقة بين امتلاك الأليل Apoe ε4 والإصابة بداء ألزهايمر لدى السوريين.

كما شملت الأهداف الثانوية للبحث مقارنة التراكيز المصلية لشحميات الدم والغلوكوز بين مجموعتي مرضى ألزهايمر وشواهد أصحّاء عقلياً من الفئة العمريّة ذاتها وعلاقتها بالنمط الجيني للأفراد.

1-4- مناهج البحث وأدواته

صُمّمت دراستنا كدراسة حالة – شاهد، وشملت مرضى ألزهايمر سوريين من النمط متأخر الحدوث (ممن هم أكبر من 65 سنة) وجمهرة بالغين أصحاء عقلياً من الفئة العمرية ذاتها. نُمّط المرضى والأصحاء جينياً باستعمال طريقة السلسلة Sequencing لمنتجات تفاعلات البوليميراز التسلسلي Polymerase Chain

Reaction (PCR) ومن ثم قورنت النتائج بين الجمهرتين وقورنت النتائج مع نسب الانتشار لدى الأعراق والإثنيّات والشعوب الأخرى بما فيها البلدان المجاورة.

أُجريت مقايسات للغلوكوز الصيامي وشحميات الدم (الكولسترول الكلي، البروتين الشحمي منخفض الكثافة، البروتين الشحمي مرتفع الكثافة، الشحوم الثلاثية)، وتمّت مقارنة المستويات المصلية بين مجموعتي المرضى والشواهد وربطها بالنمط الجيني.

1-5- أهميّة البحث

يُعد هذا البحث الأول من نوعه الذي يتحرّى تواتر أليل الخطورة Apoe ε4 لدى السوريين, ومن الدراسات القليلة من نوعها في الشرق الأوسط، خاصةً أن الدراسات العالمية أظهرت تواتراً منخفضاً للأليل Apoe ε4 في بلدان حوض البحر الأبيض المتوسط(Belloy et al., 2019).

1-6- حدود البحث

يصاب العديد من كبار السن بداء ألزهايمر وغيرها من العتاهات دون مراجعة مشافي أو عيادات لإثبات التشخيص. كما أن ارتفاع التكلفة المادية للبحث حدّت من حجم العينة. بالإضافة لاعتمادنا في وضع التشخيص على معايير سريرية لاستحالة معايرة Aβ 40/42 في السائل الدماغي الشوكي لتأكيد التشخيص السريري، لعدم توفرها في سورية وتكلفتها المرتفعة.

الفصل الأول

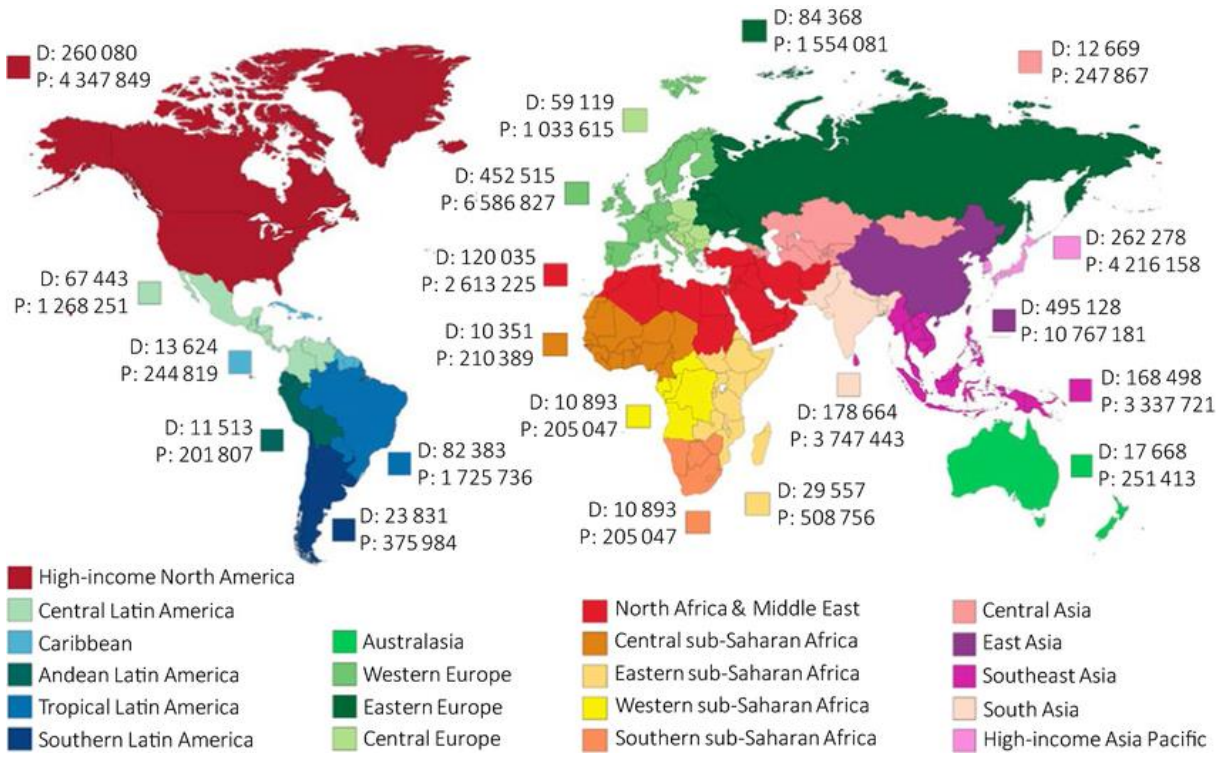
الدراسات النظريّة والمرجعيّة

2- داء ألزهايمر Alzheimer's Disease

2- 1- الوبائيات Epidemiology

يُعد داء ألزهايمر الشكل الرئيسي للخرف في الدول المتقدمة(Plassman et al., 2007)، حيث بلغ عدد مرضى ألزهايمر على مستوى العالم 44 مليونًا في عام 2015؛ ومع ذلك، من المتوقّع أن يتضاعف هذا العدد ثلاث مرات، ليصل إلى 115 مليوناً بحلول عام 2050(Nichols et al., 2022). يزداد معدل الإصابة بشكل ملحوظ بعد العقد السابع(Plassman et al., 2007). تمتلك النساء خطر إصابة مضاعف بالمقارنة مع الرجال، ومن الفرضيّات المُقترحة أن العمر الوسطي للنساء أطول من العمر الوسطي للرجال(Satizabal et al., 2016).

أشارت الدراسات أيضًا إلى أنّ معدل كثافة السكان المسنين (85 عامًا فأكثر) سيرتفع بنسبة 5% بين عامي 2000 و2050 في بعض الدول العربية(Nichols et al., 2022)، في حين أنّ انتشار الخرف قد يزيد فيها بنسبة 125٪ بحلول عام 2050(Satizabal et al., 2016). تُظهِر الدراسات التي أجريت حول انتشار الخرف وداء ألزهايمر في البلدان العربية أنّ نسبة انتشار الخرف هي 3.8% في مصر، و4.9% في لبنان، و3.7% في المملكة العربية السعودية، و1.6% في قطر، و4.2% في تونس، و4% في كلٍّ من الإمارات العربية المتحدة وسورية(Qassem et al., 2023). ويبيّن الشكل 1 معدلات انتشار داء ألزهايمر وأنواع الخرف الأخرى في دول العالم المختلفة(Nichols et al., 2022).



شكل 1 خارطة تبين معدلات انتشار داء الزهايمر وأنواع الخرف الأخرى في العالم

(Source: Global Burden Dementia Collaborators 2016)

2- 2- عوامل الاختطار Risk factors

تُقسم عوامل الاختطار إلى عوامل غير قابلة للتعديل وأخرى قابلة للتعديل.

2- 2- 1- عوامل الاختطار غير القابلة للتعديل

يُعد التقدّم في السن عامل الاختطار الأقوى لداء ألزهايمر، حيث تزداد معدلات الإصابة السنويّة في الفئات العمريّة المتقدمة. يزداد معدل الإصابة بشكل ملحوظ بعد العقد السابع (من 0.4٪ في الفئة العمرية من 65 إلى 74 عامًا إلى 7.6٪ في الفئة العمرية ≥85 عامًا). ومع تحسن مستويات الرعاية الصحية وزيادة أعداد الأفراد المعمرين، تشير التقديرات إلى تضاعف العدد الإجمالي للأشخاص الذين سيعانون من داء ألزهايمر خلال الثلاثين عامًا القادمة(2021 ,"<span Style="font-Variant=").

تُعد العوامل الوراثيّة من عوامل الاختطار الهامة أيضاً، حيث يُعد أليل Apoe ε4 أقوى عامل اختطار وراثي على الإطلاق(Karch & Goate, 2015). ونظرًا لدور هذا الأليل فإن التطورات العلاجيّة حالياً تستهدف على وجه التحديد آلية عمل الأليل في إحداثه للتبدلات المرضية التي تؤدي إلى الإصابة بألزهايمر(Xiong et al., 2021). كما تُسبّب الطفرات الموروثة بشكل سائد في مورثة طليعة بروتين النشواني Amyloid Precursor Protein (APP) أو Presenilin (PSEN) داء ألزهايمر العائلي بأعمار مبكرة (أصغر من 65 سنة)(Desikan et al., 2017).

2- 2- 2- عوامل الاختطار القابلة للتعديل

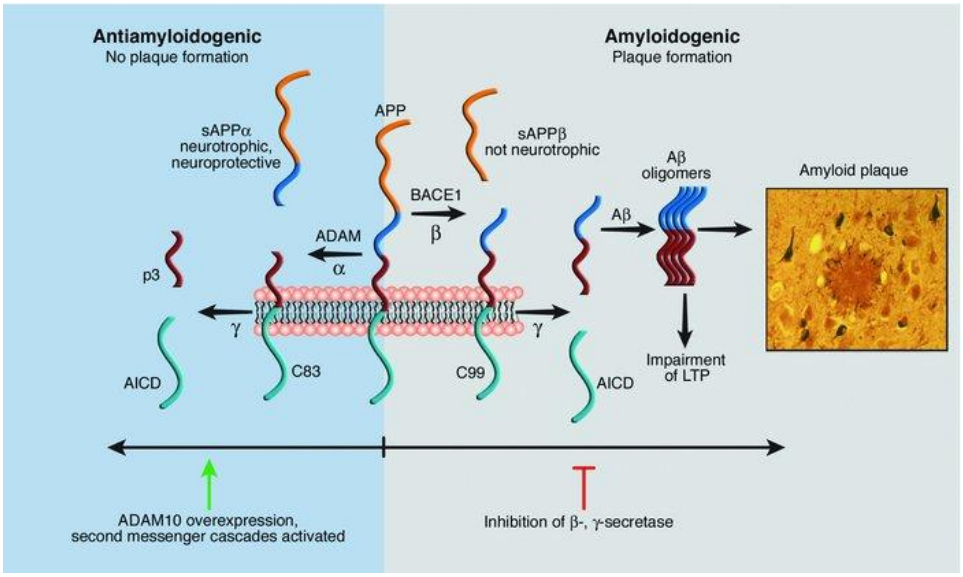
برهنت الدراسات أن كلاً من الداء السكري، وانخفاض ضغط الدم الانتصابي، وارتفاع ضغط الدم في منتصف العمر، ورضوض الرأس، والإجهاد، والاكتئاب، والسمنة في منتصف العمر، وجراحة المجازات الإكليلية هي عوامل اختطار مكتسبة لحدوث داء ألزهايمر، بينما تشمل عوامل الوقاية كلاً من طول فترة التعليم في الطفولة، وارتفاع مؤشر كتلة الجسم لدى كبار السن، والمشاركة في الأنشطة المعرفية (Yu et al., 2020). بالإضافة إلى ذلك، فإن ممارسة الرياضة بانتظام في منتصف العمر تقلّل من خطر الإصابة(Hörder et al., 2018).

2- 3- الآلية الإمراضية

يتميز داء ألزهايمر بوجود ترسّبات بروتينية خارج خلوية على شكل لويحات بين الخلايا العصبية تُعطّل وظائفها، تدعى لويحات الأميلوئيد بيتا Amyloid Beta (Aβ). تكون هذه اللويحات وفيرة في القشر الدماغي لدى المصابين وذلك في الفص الجداري والجبهي بشكلٍ خاص، وقد أثبتت الدراسات أنها تبدأ

بالتجمّع في مناطق القشر الدماغي قبل أن تبدأ الأعراض السريرية بعقود، وتسبِّب اعتلال الأوعية الدماغية النشوانيCerebral Amyloid Angiopathy (CAA) (Qiang et al., 2017) .

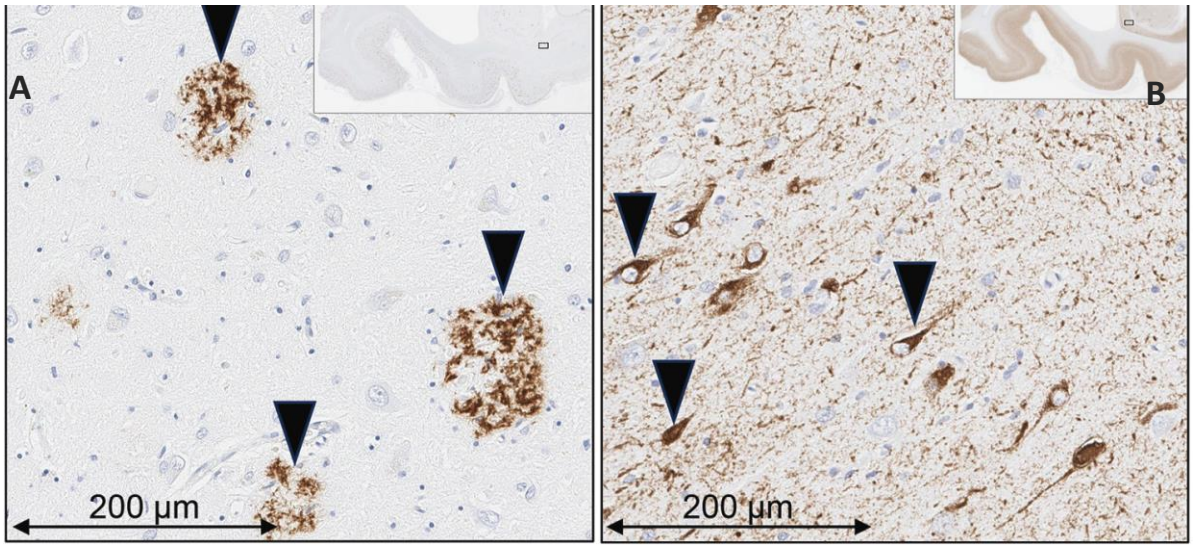
يقوم الدماغ بتركيب بروتين يدعى طليعة بروتين النشواني Amyloid protein precursor (APP)، تكون وظيفته المحافظة على الغشاء الخلوي بالحالة الطبيعية. يتم قص هذا البروتين بواسطة أنزيم ألفا سيكريتاز secretase α بالقرب من الغشاء، تاركًا 12 حمضًا أمينيًا في النطاق خارج الخلوي، ويكمل إنزيم غاما سيكريتاز secretase γ عملية القص. لكن في داء ألزهايمر يتم قص البروتين بواسطة إنزيم بيتا سيكريتاز secretase β بطريقةٍ مغايرة (القص في موقع مختلف من البروتين) تاركاً 39 حمضاً أمينياً، فيتم الحصول على Aβ 40 وAβ 42 اللذين يشكلان معاً اللويحات النشوانيّة. يظهر الشكل 2 كيفية قص طليعة البروتين النشواني في داء ألزهايمر وتشكيل لويحات النشواني (Lichtenthaler & Haass, 2004).



الشكل 2: مواقع وآلية قص طليعة بروتين النشواني APP وتشكيل لويحات الأميلوئيد بيتا Aβ في داء ألزهايمر

(Sourse: Lichtenthaler et al, J Clin Invest. 2004)

يتميّز داء ألزهايمر أيضاً بوجود التشابكات الليفيّة العصبيّة Neurofibrillary Tangles (NFT) وهي عبارة عن ألياف توجد داخل الخليّة العصبيّة تتكوّن من بروتين تاو (Tau) والذي يشكل جزءاً من النبيبات الدقيقة ووظيفته المحافظة على ثباتها، حيث تساعد النبيبات الدقيقة في نقل العناصر الغذائية والمواد المهمة الأخرى من أحد أجزاء الخلية العصبية الى الأخرى. يكون بروتين Tau بالحالة الطبيعية بشكل أحادي Monomer، لكن عندما يتبلمر يتحول إلى مثنوي Dimer ومن ثمَّ إلى قليل القسيمات Oligomer، ثم يتحوّل إلى التشابكات الليفية العصبية (NFT) التي لا يمكن إزالتها. في داء ألزهايمر، تنفصل بروتينات تاو المفسفرة عن النبيبات الدقيقة، وتتجمع مع بعضها فتعيق نظام النقل في الخلية العصبيّة وأكثر ما تتجمّع في الفص الصدغي (حصين البحر) والقفوي(Dujardin et al., 2020). يُظهر الشكل 3 مقطعاً في خزعة مأخوذة من حصين البحر لمصابٍ بداء ألزهايمر ملون مناعياً وتظهر فيها لويحات الأميلوئيد بيتا بين الخلايا العصبية في A وبروتين التاو في B (Jack et al., 2024).



الشكل 3: نتائج التشريح المرضي لخزعة من حصين البحر لمريض مصاب بداء ألزهايمر، A تظهر تراكم لويحات الأميلوئيد بيتا (الأسهم)، B تظهر بروتين التاو (الأسهم) (Source: Jack et al.,2024)

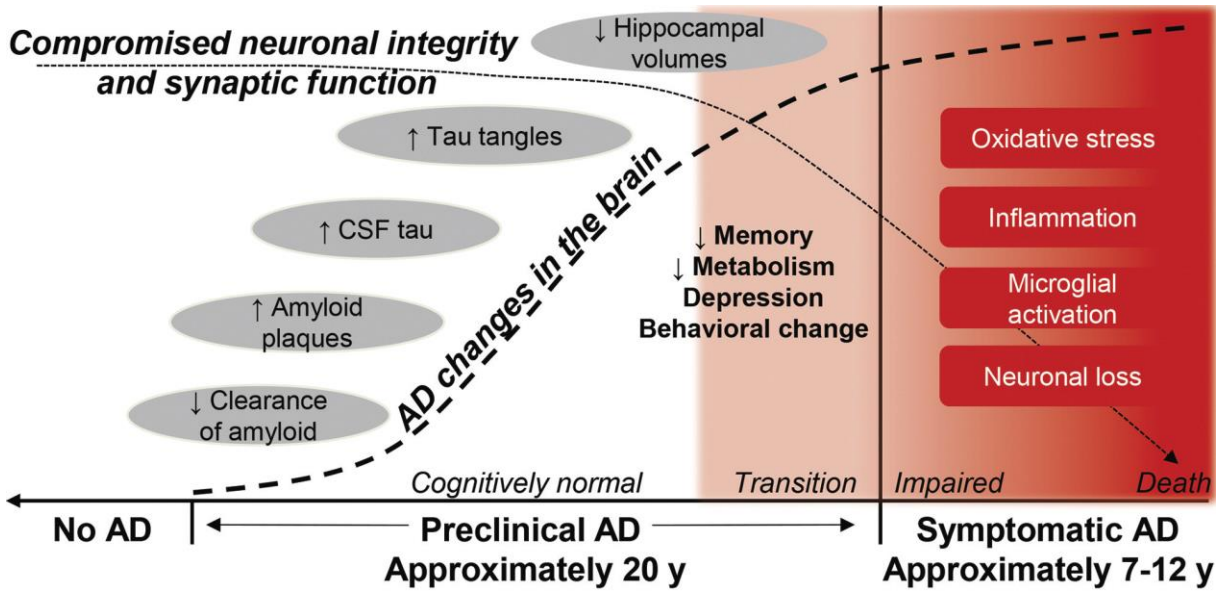
2-4 الأعراض السريرية

تترقّى عمليّة التنكس العصبي على مدى سنوات يحدث خلالها فقدان المشابك العصبية وتنكّس في الخلايا العصبية، وتمثل مرحلة الأعراض المرحلة النهائية من آلية إمراضية تمتد من عقد إلى عقدين (Leng et al., 2021).

بدايةً، تكون الأعراض خفيفة وهذه المرحلة تدعى الضعف الإدراكي المعتدل Mild Cognitive Impairment (MCI)، تكون الإصابة في الفص الصدغي وبشكل خاص في حُصين البحر (أنسي الفص الصدغي)، لذلك يكون فقدان الذاكرة السمة الرئيسيّة فنلاحظ أن المريض ينسى الكثير من الأحداث والمحادثات الأخيرة (الذاكرة الحديثة)، بالإضافة إلى نسيان المواعيد وتضييع الأشياء، ومع مرور الوقت يجد صعوبةً في تذكُّر أسماء الأشخاص والأماكن(Leng et al., 2021).

عند إصابة الفص الجداري يُصاب المريض بما يدعى اضطرابات الحيز الفراغي، حيث يجد صعوبةً في تخيُّل الفراغ مثلاً: إذا أراد أن يمر بين طاولة وكرسي بينهما مسافة، فإنه يتردد كثيراً وقد لا يستطيع المرور. عادةً ما تبقى البصيرة والإدراك سليمتين، ولكن في الحالات المتقدمة أي بعد مُضي عدة سنوات، تصاب جميع الوظائف الفكرية (بما فيها البصيرة والمحاكمة والذاكرة بعيدة الأمد) ويصبح المريض ضعيفاً ومشوشاً وغيرَ مستقرٍ، وقد نجد تبدلات في الشخصية وسوء المحاكمة(Leng et al., 2021).

يوجد في كثير من الأحيان أعراض غير معرفية (على سبيل المثال، اضطرابات المزاج، التغيّرات الحركيّة، تغيّرات الساعة البيولوجية)(Hiller & Ishii, 2018). بمجرد ظهور الأعراض، عادةً يكون الزمن المتوقع للوفاة من 7 إلى 12 سنة(Todd et al., 2013). يُلخّص الشكل 4 تطور الأعراض السريرية لداء ألزهايمر (Reiss et al., 2023).



الشكل 4: التطور السريري لداء ألزهايمر (Source: Reiss et al. 2023)

2-5 النهج التشخيصي Diagnostic Approach

2-5-1 التشخيص السريري Clinical Diagnosis

تُعدّ معايير الدليل التشخيصي والإحصائي للاضطرابات العقليّة، الطبعة الخامسة Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5) (American Psychiatric Association, 2022) إحدى أهم المعايير السريرية المعتمدة لتشخيص داء ألزهايمر.

يظهر الجدول 1 معايير DSM-5 لتشخيص داء ألزهايمر.

الجدول 1: معايير الدليل التشخيصي والإحصائي للاضطرابات العقليّة، الطبعة الخامسة Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5) لتشخيص داء ألزهايمر (American Psychiatric Association, 2022)
اضطرابات معرفية متعددة متمثلة بشكل أساسي باضطراب في الذاكرة مع واحد أو أكثر مما يلي: - حبسة Aphasia - عمه Agnosia

- تعذر الأداء Apraxia - صعوبات في الأداء التنفيذي Disturbance in executive functioning
ضعف كبير في الأداء الاجتماعي أو المهني.
بداية تدريجية ومستمرة للتدهور المعرفي.
الأعراض غير ناجمة عن أمراض عصبية أو جهازية أو تناول أدوية ومواد قد تسبب عتاهة.

من المهم إجراء تقييمات الفحص المعرفي (على سبيل المثال، فحص الحالة العقلية المصغر Mini MMSE Mental Status Examination) لتقييم درجة ضعف الذاكرة لدى المريض، وقد يكشف أيضاً عن أنواع الذاكرة الأكثر تضرراً وما إذا كانت المهارات العقلية الأخرى مصابة بالضعف أيضًا أم لا. يبين الجدول 2 بنود ومكونات فحص الحالة العقلية المصغر MMSE (Arevalo-Rodriguez et al., 2015)، والتي يمكن تبويبها في أربعة أقسام رئيسية تشمل كلاً من التوجه للزمان والمكان (10 درجات)، والتسجيل (3 درجات)، والانتباه والحساب (5 درجات)، والاسترجاع (3 درجات)، وتسمية الأشياء (2 درجة)، والتكرار (درجة)، تنفيذ الأوامر (3 درجات)، والقراءة والكتابة (درجتان)، وأخيراً رسم الأشكال (درجة).

العلامة الأعلى لفحص الحالة العقلية المصغر هي 30 درجة، وعندما تصبح الدرجة <18 أو بدأ المرض يؤثر على الوظائف اليومية للمريض فنكون أمام المرحلة المتوسطة.

Mini-Mental State Examination (MMSE)

Patient's Name: _____ Date: _____

Instructions: Score one point for each correct response within each question or activity.

Maximum Score	Patient's Score	Questions
5		"What is the year? Season? Date? Day? Month?"
5		"Where are we now? State? County? Town/city? Hospital? Floor?"
3		The examiner names three unrelated objects clearly and slowly, then the instructor asks the patient to name all three of them. The patient's response is used for scoring. The examiner repeats them until patient learns all of them, if possible.
5		"I would like you to count backward from 100 by sevens." (93, 86, 79, 72, 65, ...) Alternative: "Spell WORLD backwards." (D-L-R-O-W)
3		"Earlier I told you the names of three things. Can you tell me what those were?"
2		Show the patient two simple objects, such as a wristwatch and a pencil, and ask the patient to name them.
1		"Repeat the phrase: 'No ifs, ands, or buts.'"
3		"Take the paper in your right hand, fold it in half, and put it on the floor." (The examiner gives the patient a piece of blank paper.)
1		"Please read this and do what it says." (Written instruction is "Close your eyes.")
1		"Make up and write a sentence about anything." (This sentence must contain a noun and a verb.)
1		"Please copy this picture." (The examiner gives the patient a blank piece of paper and asks him/her to draw the symbol below. All 10 angles must be present and two must intersect.)
30		TOTAL

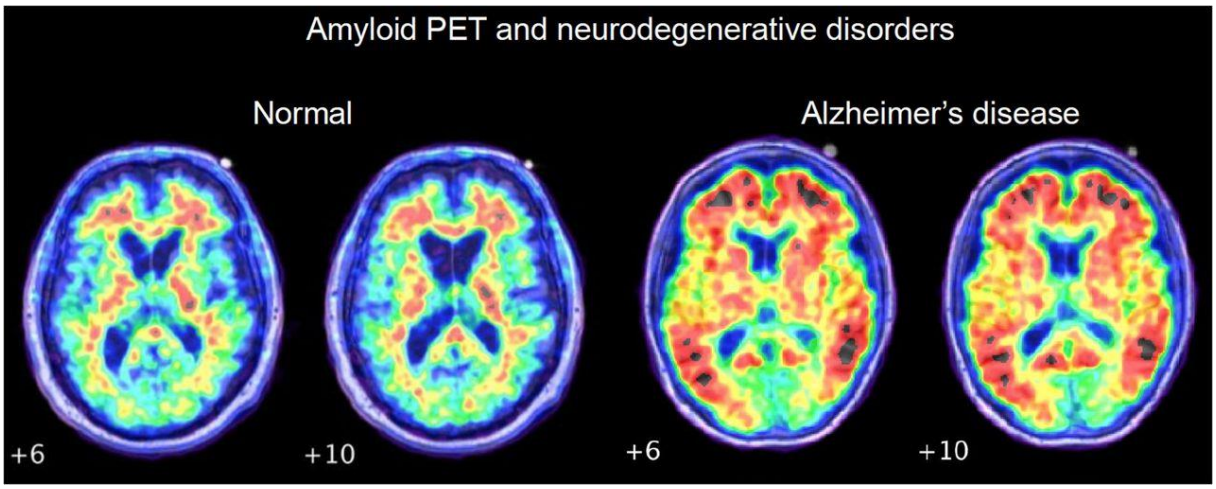
الجدول 2 فحص الحالة العقلية المصغر

(Source: Rodriguez I et al, 2021)

2-5-2 الاستقصاءات التشخيصية

تدعم التشخيص السريري جملةٌ من الاستقصاءات الشعاعية والمخبرية وأخذ القصتين المرضية والعائلية بالتفصيل، حيث توصي الأكاديمية الأمريكية لطب الأعصاب American Academy of Neurology (AAN) بإجراء التصوير الدماغي إما بالرنين المغناطيسي أو الطبقي المحوري المقطعي المحوسب، وإجراء فحص الاكتئاب، وتقييم مستويات الهرمون المحرض للغدة الدرقية في الدم Thyroid Stimulating Hormone (TSH) وفيتامين B12 (Knopman et al., 2001)، مع مراجعة شاملة للأدوية، والتعرض المحتمل للسموم (على سبيل المثال، الإفراط في تناول الكحول والتعرض المهني)، بالإضافة إلى مراجعة شاملة لتاريخ العائلة وخاصّةً أقارب الدرجة الأولى.

في الآونة الأخيرة، تمّ إحراز تقدّم كبير في تطوير طرق التصوير والمؤشرات الحيوية في السائل الدماغي الشوكي، والتي تسمح بزيادة دقة التشخيص. تمت الموافقة على التصوير المقطعي بالإصدار البوزيتروني Positron Emission Tomography (PET) من قبل إدارة الغذاء والدواء الأميركية Food and Drug Adiministration (FDA)، لكشف كلٍّ من لويحات الأميلوئيد Aβ وبروتين التاو Tau، وقد أظهرت الدراسات التالية للوفاة وجود علاقة قويّة بين فحوصات PET قبل الوفاة والتشريح المرضي للجثة ما بعد الوفاة في كشف كلٍ من Aβ وTau. يُظهر الشكل 5 عن فروق تصوير PET بين الشخص الطبيعي ومريض داء ألزهايمر (Chapleau et al., 2022)، حيث نشاهد نقص استقلاب في النواحي الصدغية والجدارية بالجهتين، مع حفاظ نسبي في القشر القفوي (على عكس عتاهة أجسام ليوي).

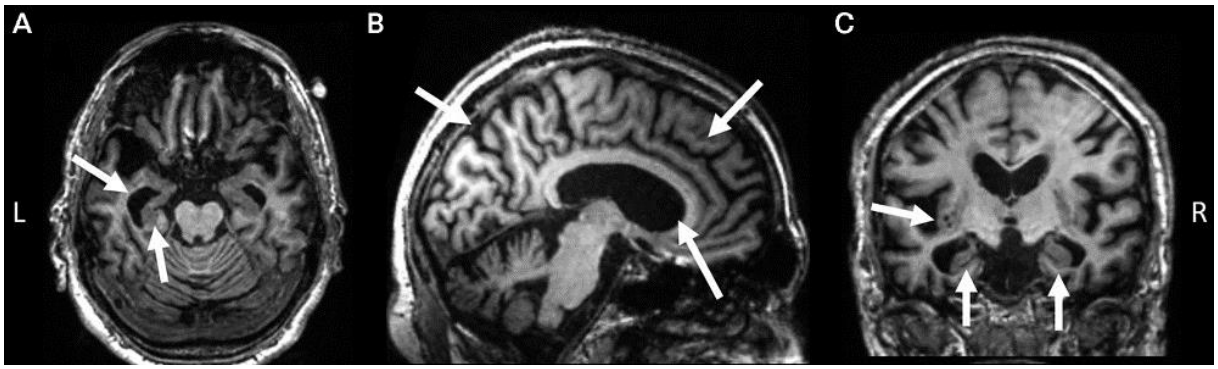


الشكل 5: فروق تصوير PET بين الشخص الطبيعي (اليسار) ومريض داء ألأزهايمر (اليمين).

(Source: Marianne Chapleau et al, 2022)

يُعد كلٌ من Aβ42 وبروتين تاو الكلي total Tau والمفسفر p-Tau أهم الواسمات الحيوية التي يمكن مقايستها في السائل الدماغي الشوكي وربط مستوياتها بداء ألزهايمر، حيث ينخفض Aβ42 في حين ترتفع مستويات كلّ من بروتين التاو الكلي والمفسفر (Blennow & Zetterberg, 2018).

عندما يكون من المتعذر إجراء تصوير PET أو المقايسات الحيوية في السائل الدماغي الشوكي، يمكن اللجوء إلى استخدام التصوير بالرنين المغناطيسي لتقييم الضمور القشري أو ضمور الحصين لدعم التشخيص. ومع ذلك، فإن العديد من الدراسات لم تجد دليلاً قوياً بما يكفي يقترح استخدام التصوير بالرنين المغناطيسي لوحده في التنبؤ بتشخيص داء ألزهايمر (Lombardi et al., 2020). يظهر الشكل 6 التبدلات الشعاعية المشاهدة في داء ألزهايمر بتقنية تصوير الرنين المغناطيسي (Desikan et al., 2013)، حيث نشاهد ضمور حصين البحر وأنسي الفص الصدغي في A، وضمور القشر الجداري وتوسع البطينات في B، وضمور فص الجزيرة في C.



الشكل 6: تصوير الرنين المغناطيسي (زمن T1) في داء ألزهايمر. (A) محوري، (B) سهمي، (C) إكليلي، تظهر ضمور الحصين والفص الصدغي الإنسي، الضمور القشري المنتشر، وتوسع الجهاز البطيني.

(Source: Rabinovici G et al, American Academy of Neurology, 2019)

2-6- المعالجة في داء ألزهايمر

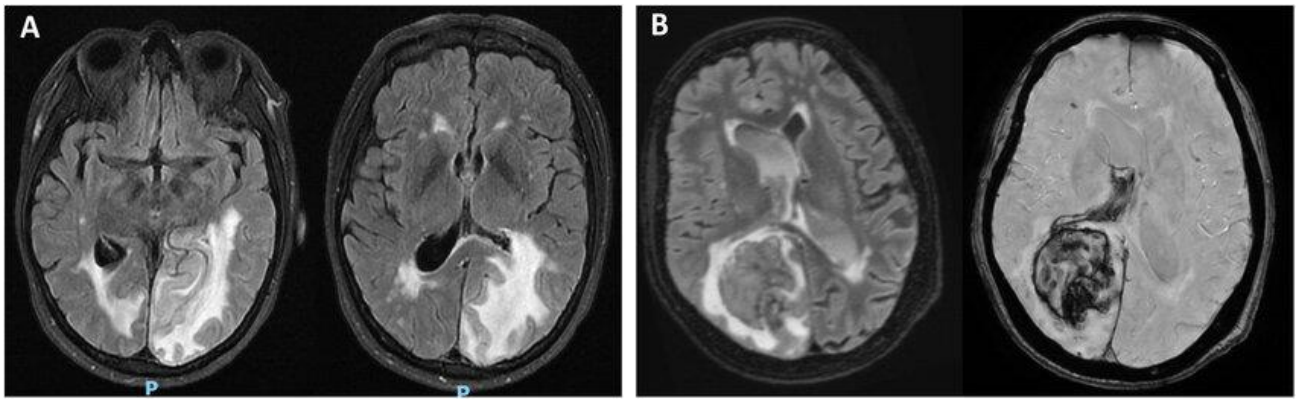
اقتصرت العلاجات الدوائية لسنوات على العلاجات العرضية، وهي مثبطات الأستيل كولين استراز التي تزيد من الأستيل كولين في المشابك العصبية مثل الدونبيزيل والريفاستغمين والغالانتامين ومضادات مستقبلات N-ميثيل-D-أسبارتات (NMDA) والتي تُقلّل من فرط استثارة الخلايا العصبية مثل الميمانتين(Birks & Harvey, 2018). يُلخص الجدول 3 أهم العلاجات الدوائية المستطبة في تحسين الضعف الإدراكي، لكن لا يوجد أي دليل على أنّ هذه الأدوية المعتمدة حاليًا علاجات مفيدة في منع ترقي المرض من المرحلة الخفيفة إلى المراحل الأكثر شدة.

الجدول 3: العلاجات الدوائية المستعملة في تحسين الوظيفة الإدراكية في داء ألزهايمر.

الدواء	آلية العمل	مرحلة البدء به	الجرعة المستخدمة
دونبيزيل Donepezil	مثبط أستيل كولين استراز	جميع المراحل	جرعة البدء 5 مغ/اليوم ممكن زيادتها بعد 4-6 أسابيع إلى 10 مغ/اليوم
غالانتامين Galantamine	مثبط أستيل كولين استراز	خفيفة إلى متوسطة	جرعة البدء 8 مغ/اليوم الجرعة القصوى 16-24 مغ/اليوم

ريفاستغمين Rivastigmine	مثبط أستيل كولين استراز	خفيفة إلى متوسطة	3 مغ/اليوم تقسم على جرعتين الجرعة القصوى 12 مغ/اليوم
ميمانتين Memantine	مضاد مستقبلات N–ميثيل–D–أسبارتات	متوسطة إلى شديدة	جرعة البدء: 5 مغ/اليوم الجرعة القصوى 200 مغ/اليوم

لم تتم الموافقة على أي علاجات مُعدّلة لسير المرض أو علاجات جديدة منذ عام 2003 وحتى عام 2021، حيث وافقت إدارة الغذاء والدواء الأميركية FDA على الضد وحيد النسيلة Aducanumab، وهو علاج تهديفي مضاد لتراكم لويجات الأميلوئيد بيتا Aβ (تم قياسها بواسطة تصوير PET) (Sevigny et al., 2016). يُعد Aducanumab فعالاً لعلاج الضعف الإدراكي المعتدل (MCI) الناجم عن داء الزهايمر والمرحلة البدئية الخفيفة (عندما تكون درجة MMSE أكثر من 23)(Dunn et al., 2021)، غير أنّ ما يقارب 40٪ من المعالجين ب Aducanumab أبدوا تأثيراً ضارّاً وهو شذوذات التصوير المرتبطة بالأميلوئيد Amyloid related imaging abnormalities (ARIA) وهي تبدلات تظهر على الرنين المغناطيسي تتضمن وذمة الدماغ و/أو النزوف. يُعد أهم عامل خطر لحدوث هذا التأثير الضار امتلاك المريض للأليل Apoe ε4 وخاصةً النمط متماثل الألائل(Salloway et al., 2022). الشكل 7 التبدلات التصويرية المرتبطة بالأميلوئيد ARIA (Villain et al., 2022).

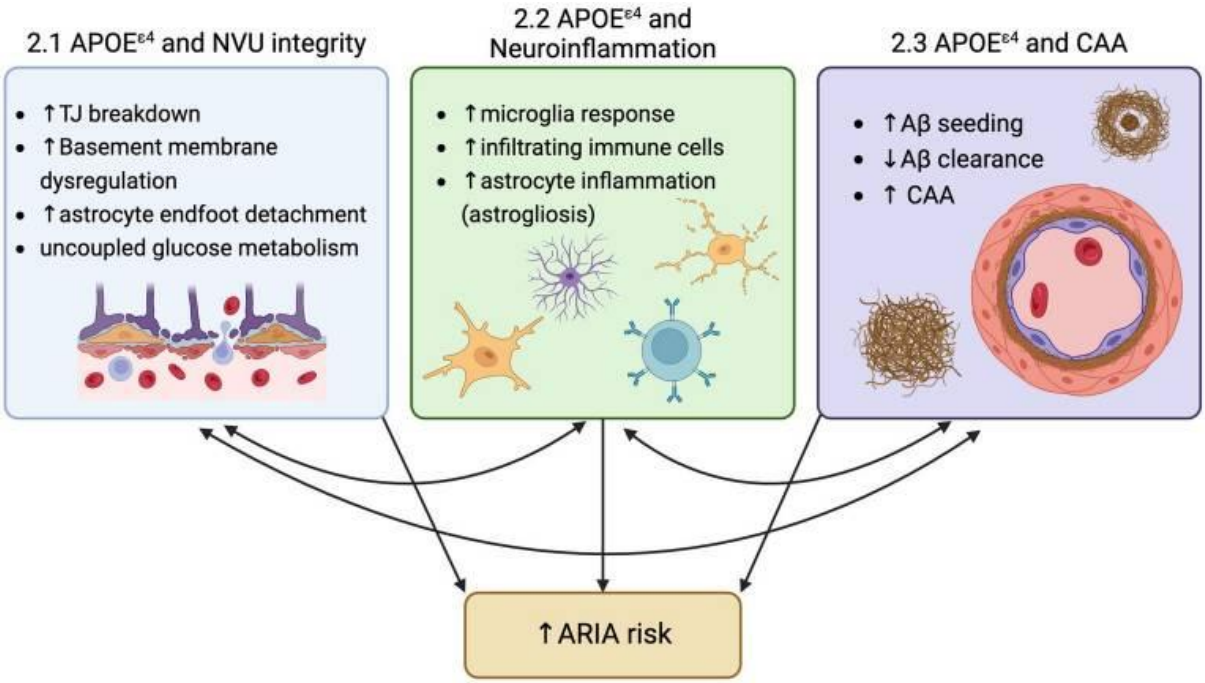


الشكل 7: الشذوذات التصويرية المرتبطة بالأميلوئيد ARIA، في A تظهر وذمة قفوية ثائية الجانب يسرى أكثر من يمنى، أمّا في B فيظهر نزف كتلي مستبطن قفوي ايمن مع وذمة محيطة به. (Source: Villain N et al, 2022)

في التجارب السريرية ENGAGE و EMERGE لتحرّي فعالية Aducanumab وجرعته العلاجية في داء ألزهايمر وتأثيراته الضارّة، تم الإبلاغ عن وجود ARIA بنسبة 29.5 و37.9 و43.0% في حاملي الأليل Apoe ε4 عند من تلقوا الجرعات المنخفضة والمتوسطة والعالية على الترتيب، مقارنةً بعدم الإبلاغ عن أي منها في الجرعات المنخفضة، ونسبة 17.8 و20.3% عند الجرعات المتوسطة والعالية لدى غير حاملي الأليل Apoe ε4 (Salloway et al., 2022). أما بالنسبة للضد وحيد النسيلة Lecanemab والذي وافقت عليه إدارة الغذاء والدواء الأميركية FDA في عام 2022، فكشفت التجارب السريرية عن معدلات 10.9% من ARIA لدى حاملي الأليل Apoe ε4 متخالف الألائل، و32.6% لدى حاملي الأليل Apoe ε4 متماثل الألائل، مقارنةً بـ 5.4% لدى غير الحاملين للأليل Apoe ε4 (Van Dyck et al., 2023).

ثلاث آليات مقترحة يزيد من خلالها امتلاك الأليل Apoe ε4 خطر حدوث ARIA وهي انخفاض متانة الحاجز الوعائي الدماغي وبالتالي إمكانية حدوث الوذمة الدماغية والنزوف أعلى، وزيادة الالتهاب العصبي Neuroinflammation وخلل التنظيم المناعي كتأثيره على الخلايا الدبقية الصغيرة وهي الخلايا المناعية

الأساسية في الجملة العصبية وزيادة وجود السيتوكينات وعبور الخلايا المناعية من الدم للنسيج العصبي، كما أن وجود مستويات مرتفعة من Aβ لدى حاملي الأليل Apoe ε4 وحدوث التهاب الأوعية الدماغية النشواني CAA مما يؤهب لحدوث ARIA أكثر، لذلك يُقترح إجراء التنميط الجيني لـ Apoe لدى المرضى الذين سيعالجون بالأدوية المضادة لـ Aβ. ويظهر الشكل 8 الآلية التي يزيد من خلالها امتلاك الأليل Apoe ε4 من خطر حدوث ARIA (Foley & Wilcock, 2024).



الشكل 8: ثلاث آليات يزيد من خلالها Apoe ε4 خطر الإصابة بـ ARIA وهي: 1) انهيار الوحدة الوعائية العصبية، 2) زيادة الالتهاب العصبي، و3) زيادة ترسب الأميلويد بيتا وCAA. (Source: Foley K et al, 2024)

3- صميم البروتين الشحمي Apolipoprotein E E (APOE)

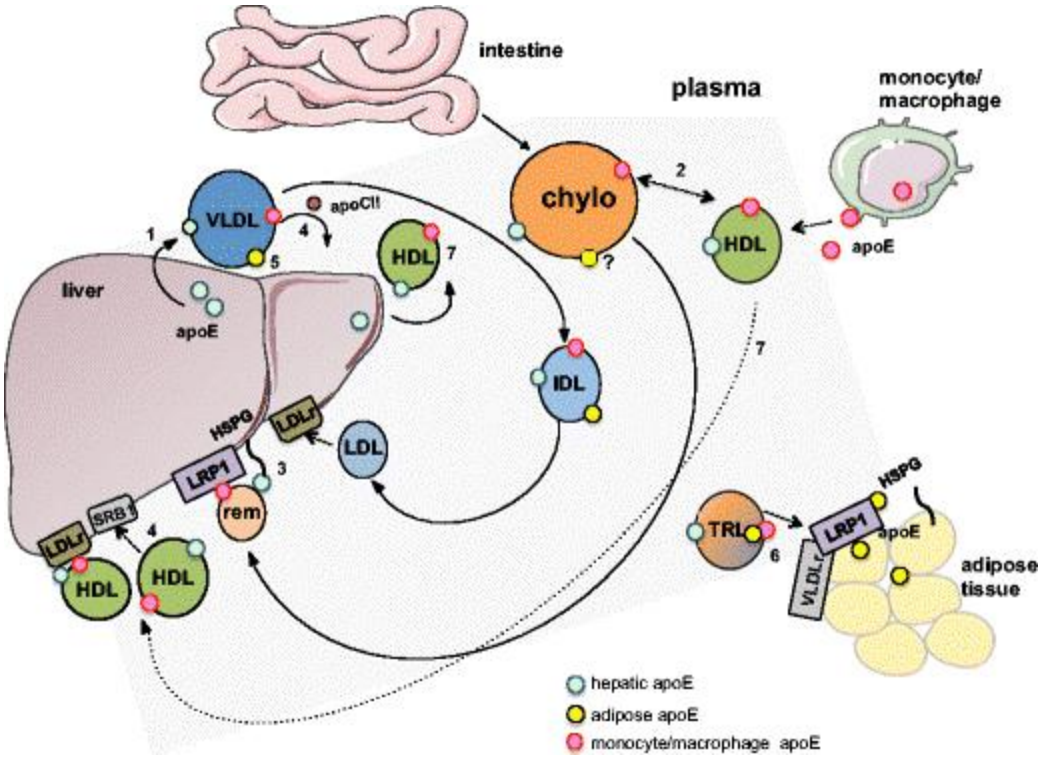
3-1- البروتين

APOE هو بروتين يضلع بدورٍ في استقلاب الشحميّات في الجسم، ينتمي لعائلة من البروتينات المرتبطة بالشحميات تسمى صمائم البروتينات الشحمية Apolipoproteins. نظراً لأن الشحوم مثل الكوليسترول

والشحوم الثلاثية غير قابلة للذوبان في الماء، فيجب أن تكون محمولة في الدوران الدموي على جزيئات محبة للماء تسمى البروتينات الشحمية(H. Wang et al., 2021).

يُعدّ APOE مكوناً مهماً في عدّة أنماط من البروتينات الشحمية بما في ذلك كلٌ من الكيلوميكرون Chylomicron، والبروتين الشحمي وضيع الكثافة Very Low Density Lipoprotein (VLDL)، والبروتين الشحمي مرتفع الكثافة High Density Lipoprotein (HDL) (H. Wang et al., 2021). يتآثر هذا البروتين مع مستقبل البروتين الشحمي منخفض الكثافة Low Density Lipoprotein Receptor (LDL-R) ويتواسط بالتالي في قبط الخلايا الكبدية للبروتينات الشحميّة الغنيّة بثلاثي الغليسريد. تقوم هذه البروتينات الشحميّة بأداء دورٍ رئيسيٍ في امتصاص الشحميات ونقلها من الغذاء في الأمعاء الدقيقة إلى الكبد(H. Wang et al., 2021).

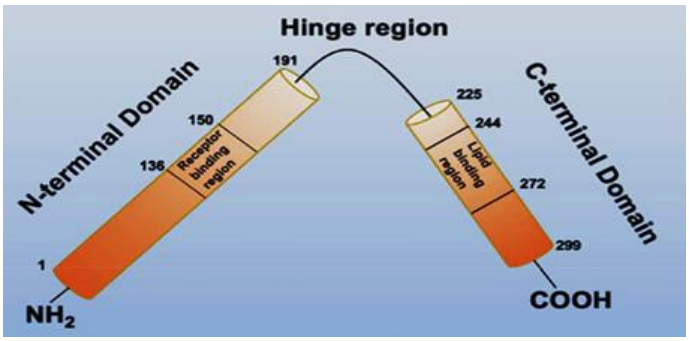
يُنتج صميم البروتين الشحمي APOE في الأنسجة المحيطية بشكلٍ أساسيٍ الكبد، ولا يعبر الحاجز الدموي الدماغي Brain Blood Barrier (BBB)، لذلك يُصطنع في الجهاز العصبي المركزي من قبل الخلايا النجمية Astrocytes وينقل الكولسترول إلى العصبونات بتواسط مستقبلات صميم البروتين الشحمي E والتي تُصنّف في عائلة مستقبلات البروتين الشحمي منخفض الكثافةLDL-R (Kockx et al., 2018). يعبّر الشكل 9 عن آلية عمل صميم البروتين الشحمي E (Kockx et al., 2018).



الشكل 9 آلية عمل صميم البروتين الشحمي E في استقلاب الشحميات.

(Source: Kockx M et al, 2018)

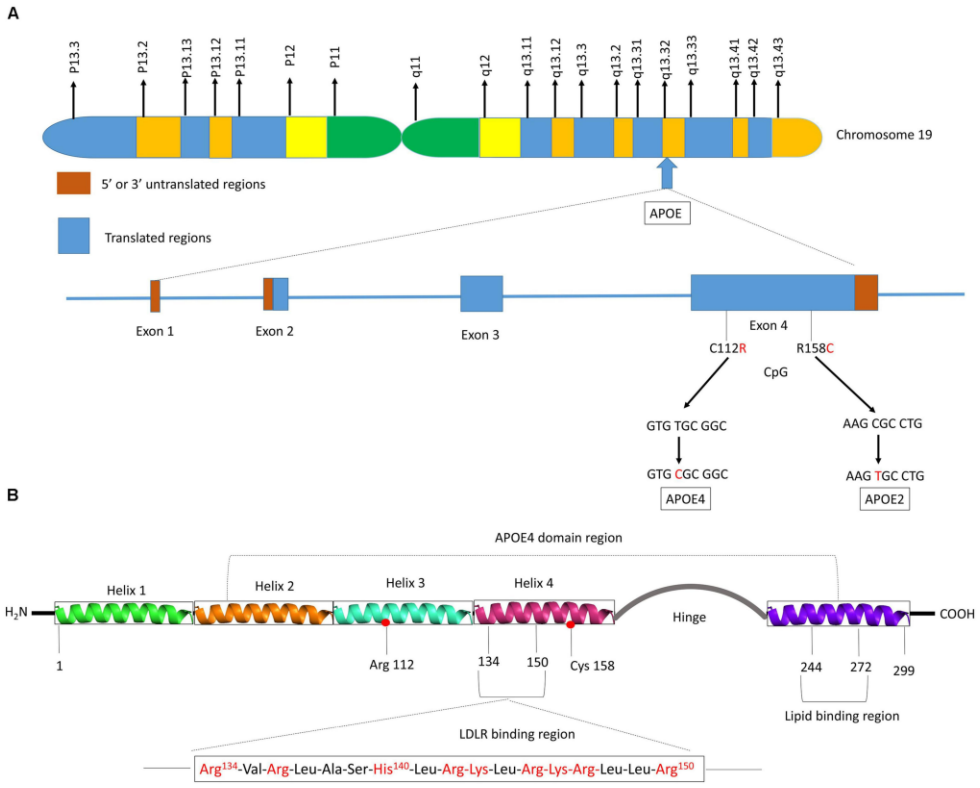
يتكون صميم البروتين الشحمي E من 299 حمضاً أمينياً بوزن جزيئي 34 ألف دالتون، ويحتوي على عدة حلزونات ألفا α–helices مزدوجة الألفة. تتألف النهاية الأمينية من أربعة حلزونات متضادة التوازي، أما النهاية الكربوكسيلية فتتألف من ثلاثة حلزونات تُشكّل مساحةً كبيرة مكشوفة كارهة للماء تتآثر مع الحزمة اللولبية الخاصة بالنهاية الأمينية عبر روابط هيدروجينيّة وجسور ملحيّة. تحتوي منطقة النهاية الأمينية موقع الارتباط بمستقبل البروتين الشحمي منخفض الكثافة LDL–R، بينما تحتوي النهاية الكربوكسيلية موقع الارتباط بالشحميّات(Phillips, 2014). يُظهر الشكل 10 بنية صميم البروتين الشحمي E (Luckett et al., 2023).



الشكل 10 بنية صميم البروتين الشحمي E (Source: Luckett ES et al, 2023)

3-2- الجين المرمزة ل APOE

تقع الجين المرمزة لاصطناع صميم البروتين الشحمي APOE E ضمن الذراع الطويل للصبغي 19 بالموقع q13.32 وتتألف من أربعة إكسونات وثلاثة إنترونات بطول 3597 زوج أساس (bp) (Sallam et al., 2014). يوضح الشكل 11 توضع جين Apoe على الصبغي 19 (Husain et al., 2021).



الشكل 11 توضع الجين Apoe على الصبغي 19 وبنيته. (Source: Husain MA et al, 2021)

3-3- مفهوم التعدّدات الشكليّة

التعددات الشكليّة الجينيّة هي تغايرات في التسلسل في الجينوم البشري بنسبة تتعدى 1% من مجموع السكّان(Vignal et al., 2002)، والتي يمكن أن تؤدي إلى تعديل التعبير عن الجين أو وظيفته. وبالتالي يمكنها أن تؤثر في المسارات البيولوجية والاستعداد للإصابة بمجموعة متنوعة من الأمراض (Baranzini, 2009). يوجد عدة أنواع من التعددات الشكلية نذكر منها:

- التعدد الشكلي مفرد النكليوتيد Single Nucleotide Polymorphism (SNP)
- التعدد الشكلي للتكرارات الترادفية Tandem Repeat Polymorphism أو ما يسمّى بالتعدد الشكلي الطولي Length Polymorphism
- التعدد الشكلي من نمط إدخال/حذف Insertion/Deletion Polymorphism
- تباين عدد النسخ Copy Number Variation (CNV)
- العناصر المتنقلة الجينومية Transposable Elements

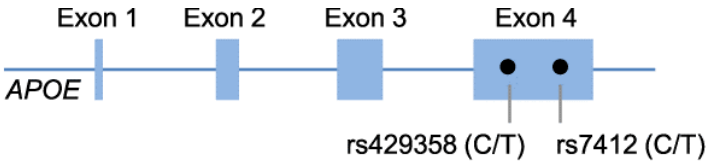
توجد التعددات الشكلية مفردة النكليوتيدات Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) في كل 1900 زوج أساس (bp) تقريباً، تبدو ثابتة نسبياً عبر الجينوم، ما عدا الصبغيات الجنسية (Sirota et al., 2009). وتُعد أكثر أنواع التغايرات شيوعاً. تصنف بشكل شائع على أنها انتقال بيورين لبيورين آخر (ادينين "A" وغوانين"G") أو بريميدين لبريميدين آخر (سيتوزين "C" وتايمين"T")، أو عمليات تبادل، يتبادل فيها بيريميدين ببيورين أو بالعكس (A>C,A>T,G>C أو G>T)(Sukhumsirichart, 2018).

يمكن أن ترتبط التعددات الشكلية مفردة النكليوتيد SNPs بشكل كبير مع العديد من الاضطرابات المختلفة، وقد يُسهم الأليل الخاص بها بالاستعداد للإصابة بمرض واحد، لكن ربما يكون وقائياً من الإصابة بمرض

آخر (Luckett et al., 2023). تُعد الدراسات السكانية الجينية مثل دراسات الترابط الجينومي الواسع GWAS Genome Wide Association Studies، ودراسات حالات – شواهد والدراسات الحشدية أساسية لتقدير فيما إذا كان ثمة ارتباط محتمل يتعلق بوجود التعددات الشكلية للنكليوتيدات المفردة SNPs عند جمهرة سُكانيّة من الأصحاء لدى المقارنة مع المصابين بالمرض. إلا أنه يمكن لدراسات جينية جزيئية محددة فقط أن تكشف فيما إذا كان التعدد الشكلي المدروس وظيفياً أم لا(Cardon & Bell, 2001).

3-4- التعددات الشكلية للجين المرمّزة ل Apoe

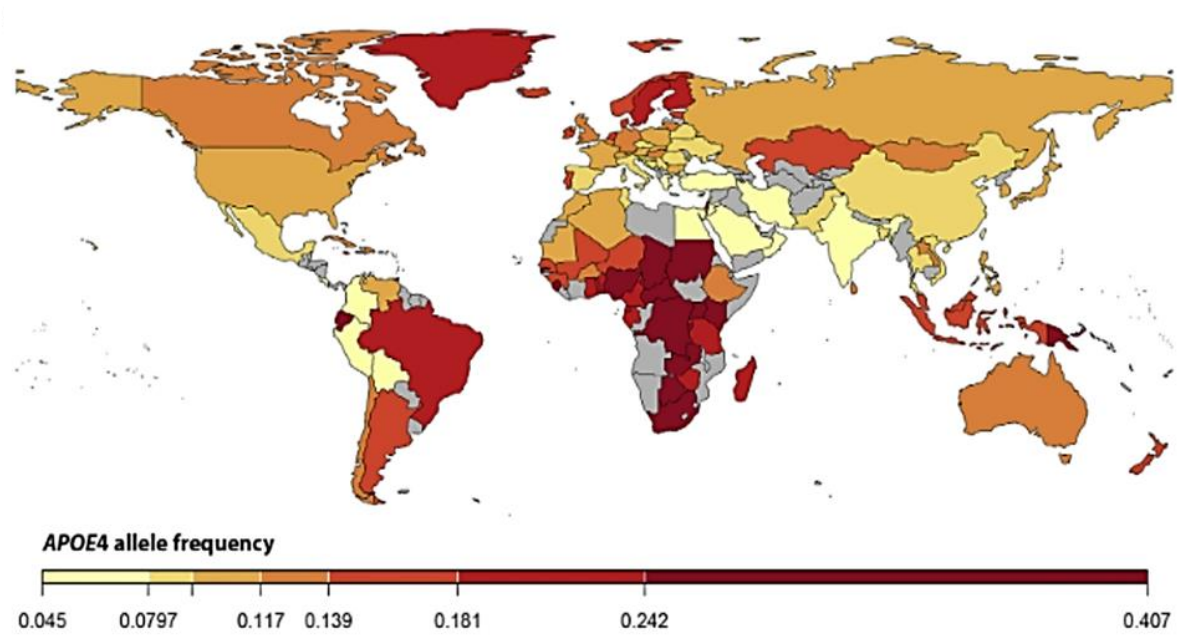
تمتلك جين Apoe البشري عدة تعددات شكلية مفردة النيكليوتيد SNPs ينجم عنها ثلاثة ألائل وهي: ε2 وε3 وε4 (Iniesta et al., 2005). تختلف هذه الألائل عن بعضها بثمالتي الحمضين الأمينيين في المواقع 112 و 158، حيث الأليل ε2 يرمّز للسستئين Cysteine (Cys) في الموقعين 112 و158، أما الأليل ε3 يرمّز لوجود Cys في الموقع 112 والأرجنين Arginine (Arg) في الموقع 158، وأخيراً يرمّز الأليل ε4 لوجود Arg في الموقعين 112 و158)(Belloy et al., 2019). يظهر الشكل 12 ألائل الـ Apoe (Abondio et al., 2019).



Allele	ε2	ε3	ε4
Haplotype	rs429358 (T) rs7412 (T)	rs429358 (T) rs7412 (C)	rs429358 (C) rs7412 (C)
Aminoacid combination	Cys 112 Cys 158	Cys 112 Arg 158	Arg 112 Arg 158

الشكل 12: ألائل الـ Apoe. (Source: Gkouskou et al. 2021)

يختلف تواتر هذه التعددات الشكليّة في الجمهرات السكانية المختلفة، ويُعد الأليل ε3 الأكثر شيوعاً، ويقدر تواتره بنحو 78% من عامة السكان(Nickerson et al., 2000)، في حين يُعد الأليل ε2 الأقل تواتراً عالمياً ويقدر تواتره بقرابة 8.4% (Eisenberg et al., 2010)، بينما يختلف تواتر الأليل ε4 حسب الأعراق والإثنيات، إذ يصل في أفريقيا إلى 40%، وفي أستراليا 26%، أما في دول حوض البحر الأبيض المتوسط فيُعد تواتره منخفضاً نسبياً(Corbo & Scacchi, 1999)، فتبيّن أنّ تواتره في لبنان 7% (Shamieh et al., 2019)، وفي اليونان 6% (Papastefanopoulou et al., 2022)، وفي المغرب 11% (Benyahya et al., 2013)، أمّا في سورية فتواتره غير معروف قبل دراستنا الحالية. يُوضّح الشكل 13 انتشار أليل ε4 Apoe عالميّاً(Belloy et al., 2019).



الشكل 13 خارطة تبين انتشار الأليل ε4 Apoe عالمياً. (Source: Belloy M et al, 2019)

3-5- علاقة Apoe مع داء ألزهايمر

يُعد Apoe ε4 عامل اختطارٍ وراثياً رئيسياً لداء ألزهايمر بشكل تراكمي، أي يزداد خطر الإصابة 15 ضعفًا لدى متماثلي الألائل ε4/ε4 (Strittmatter et al., 1993)، في حين يُقلّل Apoe ε2 من خطر الإصابة بمقدار النصف تقريبًا ويُساهم في إطالة معدل العمر (Corder et al., 1994).

تُبيّن الأدلّة أن Apoe ε4 يزيد من خطر الإصابة من خلال مزيج من اكتساب تأثيرات ضارة وفقدان تأثيرات وقائية(Liu et al., 2013). يبدو أن التفاعل بين Apoe وترسب لويحات الأميلوئيد بيتا Aβ المرضي هو آلية مركزية يساهم من خلالها Apoe في زيادة خطر الإصابة بداء الزهايمر (Namba et al., 1991)، حيث تبيّن أنّ هذا التأثير يعتمد على الأليل حيث يسبب الأليل ε4 ترسباً للأميلوئيد بيتا أكثر من الأليل ε3، أما الأليل ε2 فهو الأقل تسبباً بترسب هذه اللويحات. أظهرت دراسات التشريح المرضي ما بعد الوفاة لأنسجة الدماغ البشرية زيادة ترسب لويحات الأميلوئيد بيتا Aβ وببدء مبكر لدى الأفراد الذين يحملون الأليل Apoe ε4 (Kok et al., 2009). بالإضافة إلى ذلك، كشف التصوير المقطعي بالإصدار البوزيتروني (PET) أن حاملي الأليل Apoe ε4 كان لديهم ترسّب مبكّر وأشدّ للويحات الأميلوئيد بيتا Aβ مع نمط توزع قشري(X. Wang et al., 2020). على العكس من ذلك، أظهر معظم حاملي الأليل Apoe ε2 بدايةً متأخرةً لترسب لويحات Aβ، ووظيفة إدراكية أعلى(Serrano-Pozo et al., 2015). تشير الدراسات إلى أن الأليل Apoe ε4 يعمل على تثبيت اللويحات Aβ القابلة للذوبان والسامة للخلايا(Garai et al., 2014). بالإضافة إلى تعزيزه لتكوّن لويحات الأميلوئيد بيتا Aβ، يشارك APOE أيضًا في إزالة Aβ عبر آليات مختلفة، مثل التخلّص بتواسط المستقبلات. يبدو أن البروتين المرتبط بمستقبلات البروتين الشحمي منخفض الكثافة LDL Receptor Related Protein 1 (LRP1) في

الخلايا العصبية يتوسط إزالة Aβ عبر طرح معقدات Aβ/APOE (Van Acker et al., 2019)، ونظرًا لانخفاض استقرار المعقد بين APOE4 وAβ (Tarasoff-Conway et al., 2015)، فإن عملية الإزالة هذه ضعيفة في حاملي الأليل Apoe ε4. يتفاقم هذا أيضًا بسبب التغييرات في الارتباط بالمستقبلات وتنافس APOE على مواقع الارتباط، مما يؤدي إلى انخفاض كبير في التخلّص المتواسط بالمستقبل بوجود APOE4 (Verghese et al., 2013).

بالإضافة للويحات الأميلوئيد بيتا Aβ، فإن السمة التشريحية المرضية الأخرى لداء ألزهايمر AD هي وجود التشابكات الليفية العصبية NFTs المكوّنة من تجمعات لبروتين التاو مفرط الفسفرة. لقد ثبت أن APOE4 يزيد من فسفرة بروتين التاو مقارنةً بـ APOE2 وAPOE3 (Hou et al., 2020). كشفت الدراسات باستخدام التصوير المقطعي بالإصدار البوزيتروني (PET) أنّ حاملي الأليل Apoe ε4 أظهروا زيادة في ترسّب لبروتين تاو بالدماغ(Therriault et al., 2020). اكتسب التآثر بين APOE وبروتين tau أهمية كبرى ليس فقط في أبحاث داء ألزهايمر، ولكن أيضًا بالنسبة لأدواء اعتلالات التاو الأخرى مثل العتاهة الجبهية الصدغية Frontotemporal Dementia (FTD)، والتنكس القشري القاعدي Corticobasal Degeneration (CBD) (Jun et al., 2022). على سبيل المثال، يكون حاملو الأليل Apoe ε4 المصابون بالعتاهة الجبهية الصدغية (FTD) أصغر سنًا عند بداية المرض، ويظهرون تدهورًا إدراكيًا أكبر من حاملي أليل آخر غير Apoe ε4 (Koriath et al., 2019).

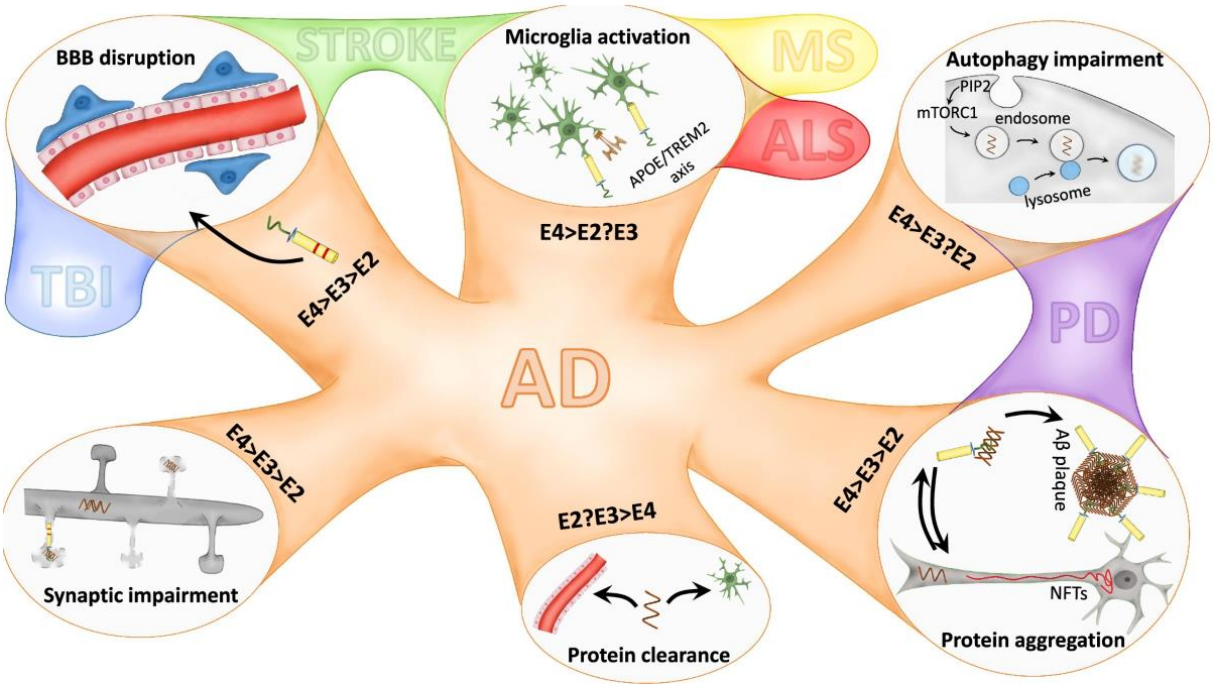
من النظريات الأخرى المقترحة أنّ أليل Apoe ε4 يؤثّر في خلايا البطانة الوعائية، حيث تبيّن وجود زيادة في تراكم الأميلوئيد في الأوعية الدموية في البرانشيم الدماغي والسحايا، ويُطلق عليها اعتلال الأوعية النشواني CAA Cerebral Amyloid Angiopathy (Nelson et al., 2013). وهذا يؤدّي بدوره إلى

انخفاضٍ في تدفّق الدم، وزيادة في تصلّب الشرايين، وزيادة حساسيتها لارتفاع ضغط الدم الشرياني .R) Zhou et al., 2020). بالإضافة إلى ذلك، أظهرت الدراسات أنّ زيادة نفوذية الحاجز الدموي الدماغي BBB تُسهم في التدهور المعرفي لدى حاملي أليل ε4 (Montagne et al., 2020)، حيث تُعد الخلايا الوعائية البطانية إحدى المكونات الرئيسية للحاجز الوعائي الدماغي BBB، والتي تشكّل فيما بينها وصلات وثيقة لإنشاء حاجز وظيفي. ومن المثير للاهتمام، أن الأليلين ε2 و3ε يحفزّان تكاثر الخلايا البطانية الوعائية بينما يقلل ε4 من تكاثرها(Masuda et al., 2017)، ممّا قد يساهم في انهيار الحاجز الوعائي الدماغي.

وبالنظر إلى وظيفة APOE في نقل الشحميات في الدماغ، فقد كشفت الدراسات التي أُجريت على الفئران تفوق APOE2 كفاءةً في نقل الكوليسترول إلى خارج الخلية، يليه ال APOE3، وأخيراً كان APOE4 الأقل كفاءةً(Michikawa et al., 2000). قد يؤدّي النقص في تيسير تدفّق الكوليسترول إلى تراكمه داخل الخلايا، مما يؤدّي إلى السميّة الخلويّة.

تشير الأدبيات إلى أنّ الالتهاب يلعب دورًا رئيسيًا في عمليات التنكس العصبي. وبينما يساهم APOE في التسبب في داء الزهايمر بعدة سبل، تشير دراسات حديثة إلى أن الالتهاب العصبي Neuroinflammation قد يكون أحد هذه السبل(Kloske & Wilcock, 2020). ثبُت أنّ الخلايا الدبقية الصغيرة Microglia، التي غالبًا ما تتم ملاحظتها محيطة بلويحات الأميلوئيد في أنسجة الدماغ، تتوسّط الاستجابة الالتهابية وبلعمة لويحات الأميلويد(Song & Colonna, 2018). قد يكون APOE ضروريًا لاستجابة الخلايا الدبقية الصغيرة، حيث تُظهر دراسةٌ حديثةٌ أن APOE3 أكثر كفاءةً في تحفيز استجابة الخلايا الدبقية الصغيرة لحقن Aβ في الدماغ مقارنةً بـ APOE4 (Fitz et al., 2021). ومن المثير للاهتمام أن حاملي

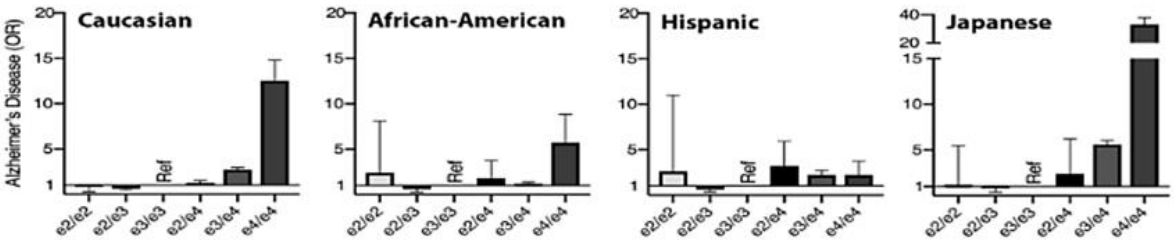
أليل ε4 كان لديهم مستوياتٍ أقل من البروتين الارتكاسي C C-reactive protein (CRP) مقارنةً بحاملي الأليلين ε3 وε2، كما أظهر تحليل السائل الدماغي الشوكي CSF أيضًا انخفاضًا في CRP وبروتينات المتممة لدى حاملي أليل ε4 (Tao et al., 2018). يُوضّح الشكل 14 الآليات المحتملة لعلاقة APOE4 بداء ألزهايمر (Kim et al., 2009).



الشكل 14 الآليات المحتملة لعلاقة APOE4 بداء ألزهايمر. (Source: Jongsu K et al, 2009)

تبين ترافق Apoe ε4 مع داء ألزهايمر لأول مرة عام 1993 (Corder et al., 1993)، وتتالت الدراسات التي تؤيد هذا الارتباط، لكن لوحظ لاحقاً وجود تباين في قوة هذا الارتباط بين الأعراق والإثنيات المختلفة، فمثلاً عند الأفارقة الأميركيين واللاتينيين كان هذا الارتباط أضعف منه لدى اليابانيين والقوقازيين. يتمتع النيجيريون أيضًا بانتشار مرتفع للأليل Apoe ε4 بين سكان العالم، ولكن داء ألزهايمر نادر بينهم(Sepehrnia et al., 1989). يبين الشكل 15 علاقة أليل Apoe ε4 بداء ألزهايمر عند إثنيات مختلفة(Belloy et al., 2019)، حيث تصل نسبة الأرجحية Odd Ratio (OR) للإصابة بداء ألزهايمر

في النمط الجيني Apoe ε4/ε4 إلى 13 لدى القوقازيين، و15 لدى اليابانيين، بينما لا تتعدى 2 لدى اللاتينيين و5 لدى الأفارقة الأميركيين.



الشكل 15 علاقة أليل Apoe ε4 بداء ألزهايمر عند إثنيات مختلفة. (Source: Belloy M et al, 2019)

يبدو أن هناك عوامل أخرى تؤثر في علاقة الأليل Apoe ε4 بداء ألزهايمر، حيث تبيّن أن النساء اللواتي لديهن نسخة واحدة من الأليل أي النمط الجيني متخالف الزيجوت heterozygote لديهنّ زيادة كبيرة في خطر الإصابة مقارنةً بالرجال الذين يحملون نسختين أي النمط الجيني متماثل اللواقح homozygote (Farrer et al., 1997). ومن المثير للاهتمام، أنّ بعض الدراسات أثبتت وجود الألائل ε2 مع ε4 أي النمط الجيني Apoe ε2/ε4 قد يوفر بعض الحماية ضد تراكم لويحات الأميلوئيد Aβ (Insel et al., 2021). ومع ذلك، وجد آخرون أن نسبة الأرجحية للأفراد حاملي النمط الجيني Apoe ε2/ε4 تشبه نسبة حاملي الأليل ε4 أكثر من حاملي الأليل ε2، مما يشير إلى أن الخطر المتزايد المرتبط بوجود الأليل ε4 أكثر هيمنةً من الحماية التي يوفرها الأليل ε2 (Goldberg et al., 2020).

3-6- علاقة Apoe مع أدواء أخرى

يُعد أليل Apoe ε4 متورطاً في السببية المرضية لعدة أمراض أخرى تتضمن كلّاً من التصلب العصيدي وأمراض القلب والدماغ الإقفارية(McCarron et al., 1999)، والترقي السريع للتصلب

المتعدد(Chapman et al., 2001)، والمتلازمة الاستقلابية(Elosua et al., 2003) حيث تبين أن حاملي أليل الخطورة Apoe ε4، وخاصةً البدينين منهم، تكون لديهم مستويات التراكيز المصلية من الغلوكوز أعلى ويعانون من مقاومة للأنسولين. كما يرتبط بزيادة تراكيز الكولسترول الكلي والبروتين الشحمي منخفض الكثافة (LDL)، وانخفاض في مستويات البروتين الشحمي مرتفع الكثافة (HDL) (Bennet et al., 2007).

4- مسوّغات البحث

يتزايد الاهتمام باستعراف العوامل الجينية التي تسهم في زيادة الاستعداد للإصابة بداء ألزهايمر وفي آليته الإمراضية. يعد Apoe ε4 العامل الجيني الأهم في تطوّر داء ألزهايمر، غير أنّ الدراسات السابقة كانت قد أظهرت تباينات في تواتر أليل الخطورة Apoe ε4 بين الأعراق والإثنيّات المختلفة، كما تباينت قوة علاقة ارتباطه بحدوث داء ألزهايمر حسب العرق أو الإثنيّة. شهدت الأعوام الأخيرة نشر مقالات تحرّت تواتر الأليل Apoe ε4 في دول حوض المتوسط والشرق الأوسط، غير أنّنا لم نقع على أية مقالة بحثية تحرّت تواتر هذا الأليل وعلاقته بالاستعداد لداء ألزهايمر لدى السوريين.

من جهة أخرى، ومع بزوغ علم الوراثيّات الدوائي Pharmacogenetics وتطبيقاته السريريّة، أصبح إجراء اختبارات التنميط الجيني ل Apoe ضرورة قبل المباشرة بالعلاجات الحديثة الهدفية الموجهة للأميلوئيد بيتا في حال توفرها.

وبناءً عليه، فقد هدفت دراستنا بشكل أساسي إلى مقارنة تواتر أليل Apoe ε4 بين عينة من الأصحاء ومرضى داء ألزهايمر في سورية. ونظراً لتضارب نتائج الدراسات التي تحرّت علاقة الأليل Apoe ε4

بالتراكيز المصليّة لكلّ من الغلوكوز والشحميات، شملت الأهداف الثانوية لدراستنا استقصاء العلاقة المحتملة لاضطراب الشحميات والغلوكوز في المصل مع داء ألزهايمر في جمهرة من المرضى السوريين، وتحرّي علاقة النمط الجيني ل Apoe بمستويات شحميات وغلوكوز المصل.

الفصل الثاني

منهج البحث وأدواته

(القسم العملي)

5- المواد Materials

يضم الجدول 4 العتائد المعتمدة في هذا البحث، أما الأجهزة فنوردها في الجدول 5، ونخصص الجدول 6 للبرمجيات.

الجدول 4: العتائد المستخدمة في البحث

العتيدة	الاسم التجاري	المصدر
عتيدة استخلاص الدنا	Whole blood DNA extraction	Qiagen, Germany
عتيدة مزج رئيس Master Mix	OnePCRTM	GeneDirex, United States
الواسم 100 bp DNA ladder	DNA Ladder 100 bp	Kapa Biosystems, United States
زوج من المرئسات Primers		Eurofins, Germany
عتيدة السلسلة	ABI PRISM® BigDyeTM Terminator Cycle Sequencing Kit	Thermo Fisher Scientific®, United States

الجدول **5**: الأجهزة المستخدمة في البحث

الجهاز	الاسم التجاري	المصدر
دوارة مازجة	Vortex mix	IKA®, Germany
حمام مائي	JSWB-06T	JSR®, South Korea
مقياس الطيف الضوئي النانوي	MaestroNano Pro	MAESTROGEN®, Taiwan
جهاز المايكروويف	Microwave	Triview®, China
جهاز الرحلان الكهربائي الأفقي	RunViewTM_ The Cleaver Scientific safe series	Cleaver Scientific Ltd®, UK

جهاز تصوير الهلامة بالأشعة فوق البنفسجية	Gel Documentation microDOCTM	Cleavrer SWcientific Ltd®, UK
جهاز السلسلة	ABI PRISM® 3730XL Analyzer	Thermo Fisher Scientific®, USA

الجدول 6 البرمجيات المستخدمة في الدراسة
Microsoft World 2019
Microsoft Excel 2019
Chromas 2.6.6
(SPSS) Statistical Package for the Social Sciences version 23

6- الطرائق Methods

6-1 تصميم الدراسة Study Design

صُمّمت دراستنا لتكون دراسة رصدية من نمط حالة – شاهد Case-Control Study. حظيت هذه الدراسة بموافقة مجلس أخلاقيات الأبحاث الطبية الحيوية في جامعة دمشق بتاريخ 4-4-2023 والرقم التعريفي: MD-040423-68 (مرفق 1).

أنجز الشق السريري للدراسة الحاليّة في مستشفيات كلية الطب – جامعة دمشق، ومجموعة من العيادات الخاصة، إضافةً لبعض دور العجزة (دار السعادة في دمشق، المركز الإنجيلي في حمص)، حيث تمّت مقابلة المرضى والأصحاء وأخذ قصة سريرية مفصلة وفحص سريري والاطلاع على الاستقصاءات

الشعاعية والمخبرية بعد أخذ الموافقة المستنيرة من ذوي المريض أو الأوصياء القانونيين عليهم و أعطى جميع الأصحاء موافقاتهم المستنيرة (مرفق 2).

أُنجز العمل المخبري في كلٍّ من المستشفى الوطني الجامعي بدمشق و مخبر التقانات الحيوية الصيدلانية والمناعية في الهيئة العامّة للتقانة الحيويّة.

2-6 عينة الدراسة Study Sample

معايير التضمين

- مجموعة المرضى:

أفراد سوريّون أفضى تقييمهم بناءَ على معايير الدليل التشخيصي والإحصائي للاضطرابات العقليّة، الطبعة الخامسة Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition DSM-5 (American Psychiatric Association, 2022) إلى تشخيص داء ألزهايمر متأخر البدء LOAD أي ممن بدأت الأعراض لديهم بعمر أكبر أو يساوي 65 سنة.

- مجموعة الشواهد:

أفراد سوريون سليمون عقلياً نتيجة تقييمهم بناءً على فحص الحالة العقلية المصغر Mini Mental Status Examination MMSE من نفس الفئات العمرية.

معايير الاستبعاد

- مرضى العتاهات الذين لا يتوافق تشخيصهم سريرياً مع داء ألزهايمر (عتاهة أجسام لوي، عتاهة وعائية، عتاهة جبهية صدغية).

- وجود أمراض قد تؤثر في الذاكرة (اضطراب الغدة الدرقية، عوز فيتامينB12 ، قصور كلوي بمعدل رشح كبي أقل من 30%، قصور خلية كبدية) وذلك بناءً على مقايسة كلٍ من TSH، وB12، وناقلات الأمين، ووظائف الكلية.
- وجود قصة تناول أدوية قد تؤثر في الحالة العقلية.

6-3 الاعتيان Sampling

تم الاعتيان بشكل عشوائي للمرضى ممن هم 65 سنة وما فوق الذين تماشت قصتهم السريرية وفحصهم السريري مع تشخيص داء ألزهايمر بناءً على معايير DSM-5 التي تم ذكرها سابقاً، ثم تم اختيار الشواهد الأصحاء عقلياً بشكل عشوائي من الفئة العمرية ذاتها.

6-4 طريقة العمل

بُزلت عينات دم وريدي محيطي (3 مل) من جميع المشاركين في الدراسة ضمن أنابيب حاوية على مضاد التخثر Ethylene-Diamine-Tetraacetic Acid (EDTA)، وحُفظت في المجمدة بدرجة حرارة -20 °C في المستشفى الوطني الجامعي بدمشق – قسم المخابر لحين استخلاص الحمض النووي الريبوزي منزوع الأكسجين DNA Deoxyribonucleic Acid الجينومي.

تم إجراء المقايسات المخبرية التالية لدى المرضى والشواهد (الكولسترول الكلي TC، البروتين الشحمي منخفض الكثافة LDL-C، البروتين الشحمي مرتفع الكثافة HDL-C، الغليسريدات الثلاثية TG، غلوكوز المصل الصيامي أي بعد صيام ل 12 ساعة). تم اعتماد القيم المرجعية الحدّية بناءً على الإرشادات الأخيرة في علاج اضطراب الشحميات للكليّة الأمريكيّة لأمراض القلب/جمعية القلب الأمريكية للكوليسترول American College of Cardiology/American Heart Association cholesterol

AHA/ACC لعام 2018 (Khera, 2019)، حيث تعد تراكيز الكولسترول طبيعية عندما تكون أقل أو تساوي 200 مغ/دل بعد صيام 8 ساعات وفرط الكولسترول في حال زادت القيم أكثر من 200 مغ/دل، وتعد تراكيز البروتين الشحمي منخفض الكثافة LDL-C طبيعيّة عندما تكون أقل أو تساوي 100 مغ/دل ومرتفعاً عندما يكون أكثر من ذلك، وتُصنّف تراكيز البروتين الشحمي مرتفع الكثافة HDL-C بحيث تُعد منخفضة عندما تكون القيم أقل من 40 مغ/دل، وطبيعية عندما تكون بين 40 و60 مغ/دل، ومثالية عندما يكون أعلى من 60 مغ/دل. وصُنّفت الغليسريدات الثلاثية TG طبيعية في حال أقل أو تساوي 150 مغ/دل، ومرتفعة في حال كانت أعلى من 150 مغ/دل.

أما بالنسبة لتراكيز الغلوكوز فاعتُمدت إرشادات الجمعية الأمريكية لداء السكري The American Diabetes Association (ADA) لعام 2023 (ElSayed et al., 2023) حيث يُعد غلوكوز المصل الصيامي طبيعياً عندما يكون أقل من 100 مغ/دل، وتُدعى مرحلة ما قبل السكري عندما يكون الغلوكوز الصيامي بين 100 و125 مغ/دل، أما مرحلة السكري عندما تكون التراكيز أكبر أو يساوي 126 مغ/دل.

6-5 التنميط الجيني Genotyping

6-5-1 استخلاص DNA الجينومي DNA Extraction

استخلص الدنا الجينومي genomic DNA باستخدام عتيدة Qiagen DNA extraction from whole blood من شركة Qiagen الألمانية من حجم قدره 300 مكل من الدم بعد إذابة العينات المجمدة باتباع تعليمات الشركة المصنعة وفق الخطوات الآتية:

- أُضيف 750 ميكرولتر من محلول حل الكريات الحمر إلى أنبوب 1.5 مل حاوٍ على 300 ميكرولتر من الدم المحيطي، وقُلّب الأنبوب بلطف 6 مرات.

- ثُفل الأنبوب بقوة 10000 g لمدة 40 ثانية.
- تم التخلص من السائل الطافي والمحافظة على الرسابة الخلوية ونبقي الأنبوب على ورق نشاف نظيف مدة دقيقتين.
- أضيف حجم قدره 150 ميكرولتر من السائل الحال للخلايا و1.5 ميكرولتر من البروتياز إلى معلق كريات الدم البيض ومزج بشكل جيد حتى اختفاء أي كتل خلوية مرئية.
- حضن المزيج في حمام مائي 65 درجة لمدة 5 دقائق.
- أضيف 150 ميكرولتر من الإيزوبروبرانولول لترسيب الدنا.
- ثُفل الأنبوب بقوة 15000 g لمدة 6 دقائق.
- تم التخلص من السائل الطافي وجفف الأنبوب على ورق نشاف نظيف.
- أضيف 150 ميكرولتر من الإيتانول بتركيز 70% للتخلص من الأملاح.
- ثُفل الأنبوب بسرعة 15000 g لمدة دقيقتين.
- تم التخلص من السائل الطافي وجفف الأنبوب على ورق نشاف نظيف، ثم تُرك الأنبوب في الهواء على الأقل 5 دقائق.
- أُضيف 100 ميكرولتر من محلول الإماهة إلى الأنبوب.
- حضن الأنبوب في حمام مائي بدرجة 65 لمدة ساعة.

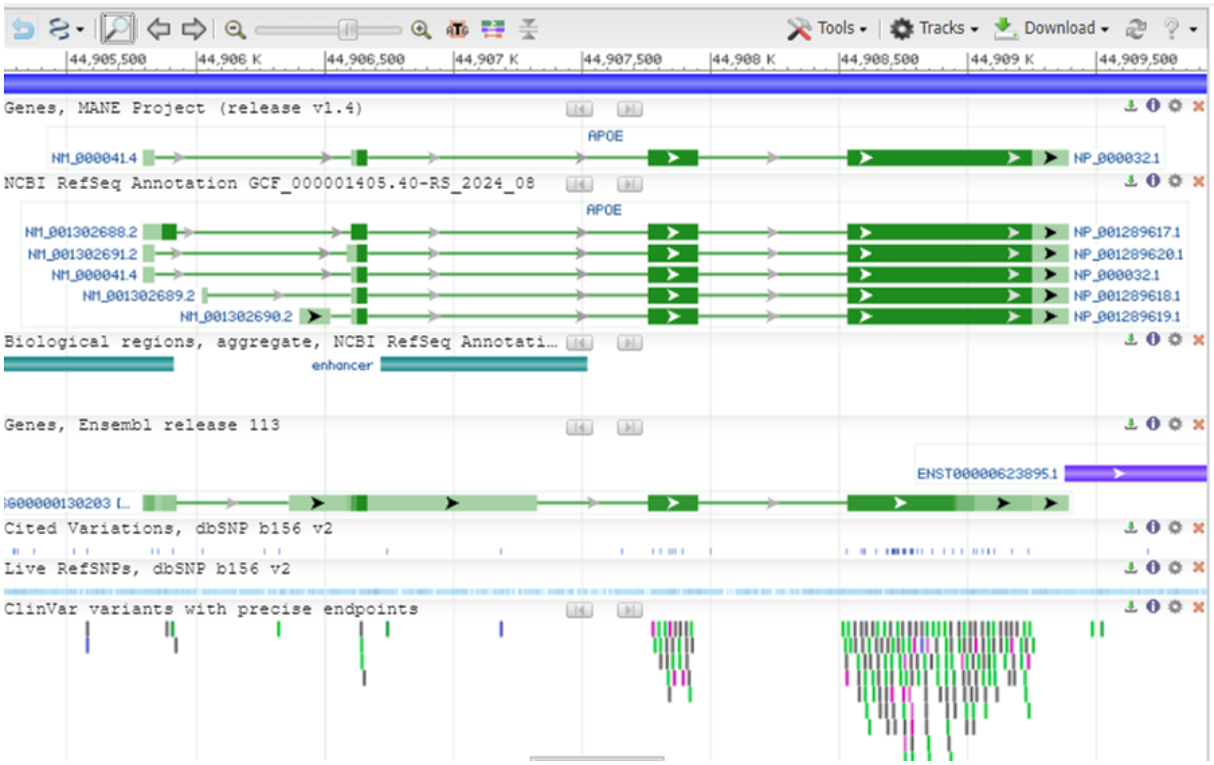
6-5-2- قياس تراكيز ال DNA المستخلص

قيست تراكيز الدنا وقيمت نقاوته باستعمال جهاز مقياس الطيف الضوئي النانوي MaestroNano Pro، حيث أُخذت قراءات الامتصاص في الجهاز عند طول موجة 260 نانومتر وهو الامتصاص الأعظمي

للضوء من قبل الدنا وبذلك قُدر التركيز. حُسبت النقاوة بقسمة الامتصاص بطول موجة 260 نانومتر على الامتصاص في موجة طولها 280 نانومتر، واعتمدت القيم التي تتراوح من 1.7 إلى 2.0 مؤشراً للنقاوة جيّدة.

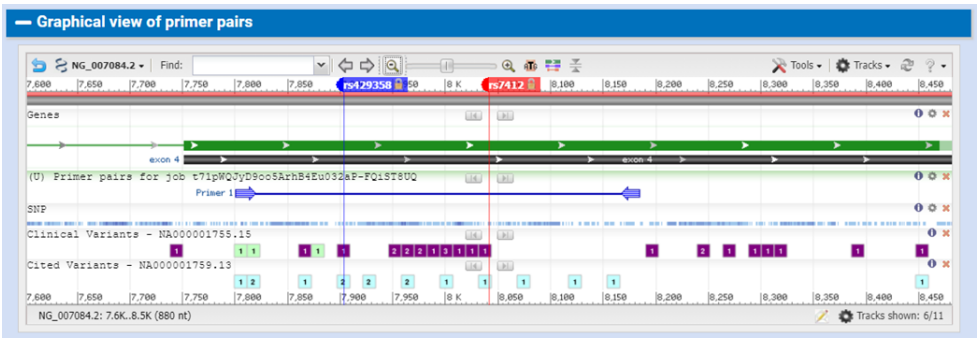
3-5-6 تفاعل البوليميراز التسلسلي Polymerase Chain Reaction (PCR)

قمنا أولاً بالبحث عن التعددات الشكلية المطلوبة في جين Apoe في قاعدة بيانات المعهد الوطني لمعلومات التقانة الحيوية National Institute for Biotechnology Information (NCBI) الخاص بالتعددات الشكلية باستخدام أرقام التعريف الخاصة بالتعددات الشكلية rs 429358 وrs 7412، وحُددت مواقع التعددات الشكلية في الجينوم البشري، ويوضّح الشكل 16 نتائج البحث عن الجين المطلوب في قاعدة بيانات المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية.



الشكل 16: نتائج البحث عن جين Apoe في قاعدة بيانات المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية NCBI.

انتُقي التسلسل النيكليوتيدي التالي 5’-CTGGAGGAACAACTGACCC-3’ كمرئس تقدمي Forward Primer بطول 19 زوج أساس bp، والتسلسل التالي كمرئس عكسي Reversed Primer 5’-CTCCTGTAGCGGCTGGC-3’ بطول 17 زوج أساس bp، حيث تم تصميمهم من قبل الباحثين ليشملوا الطفرتين. تم التحقق من نوعية هذين المرئسين باستخدام أداتي Blast وMFEprimer كما يظهر في الشكل 16، حيث تبين احتمالات وجود حوالي 80 منتج بما في ذلك المنتج الأكثر احتمالية والموافق للجين المستهدف. أفضت عمليات الأمثلة، وعلى الأخص ضبط درجة حرارة الانصهار Melting Tempreture (Tm) بحدود 60 درجة مئوية، لاستبعاد المنتجات الثانوية المحتملة الأخرى كما يظهر في الشكلين 17 و18.



Primer pair 1

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CTGGAGGAACAACTGACCC	Plus	19	7801	7819	57.37	57.89	2.00	2.00
Reverse primer	CTCCTGTAGCGGCTGGC	Minus	17	8184	8168	59.85	70.59	5.00	2.00
Product length	384								

Products on potentially unintended templates

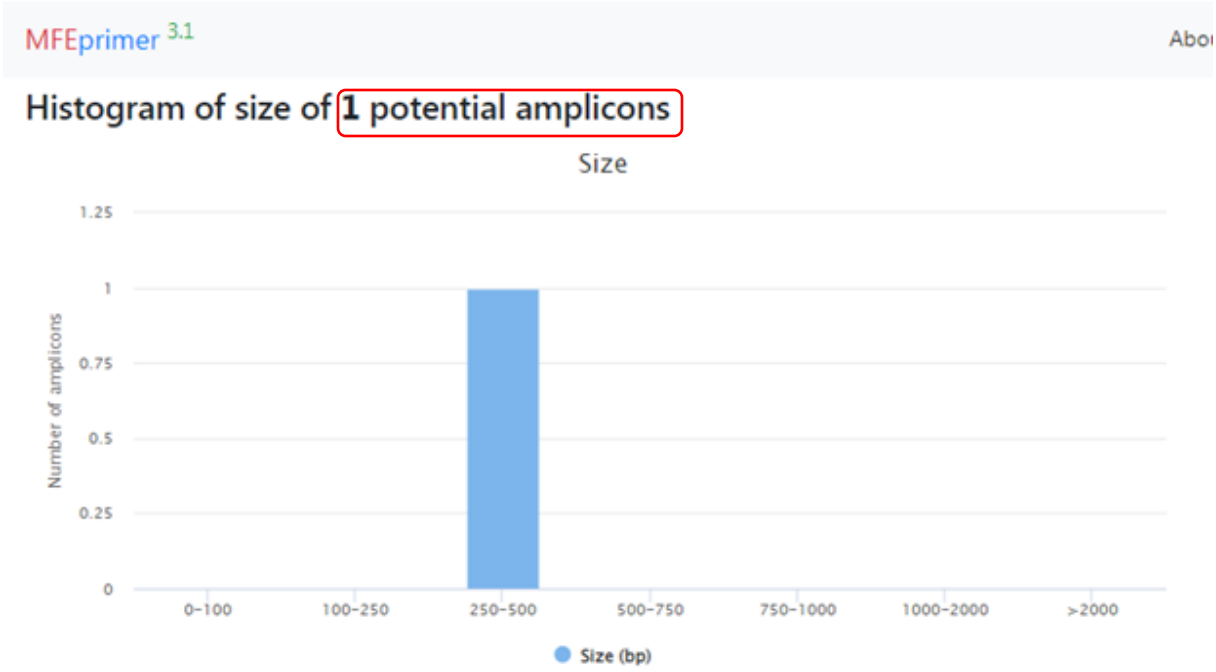
>NM_001302690.2 Homo sapiens apolipoprotein E (APOE), transcript variant 4, mRNA

```
product length = 384
Forward primer  1    CTGGAGGAACAACTGACCC  19
Template        433  ..................  451

Reverse primer  1    CTCCTGTAGCGGCTGGC  17
Template        816  .................  800
```

>NM_001302688.2 Homo sapiens apolipoprotein E (APOE), transcript variant 1, mRNA

```
product length = 384
Forward primer  1    CTGGAGGAACAACTGACCC  19
Template        437  ..................  455

Reverse primer  1    CTCCTGTAGCGGCTGGC  17
Template        820  .................  804
```

الشكل 17: التحقق من ارتباط زوج المرئسات الخاص بالكشف عن ال Apoe مع التسلسل المراد تضخيمه باستخدام أداة ال Blast.



Description of 1 potential amplicons

Amp ID	Product Name	Fp x Rp	Product Size (bp)	Fp T_m (°G)	Rp T_m (°G)	Fp ΔG (kcal/mol)	Rp ΔG (kcal/mol)
1	chr19	P1 x P2	384	59.31	59.68	-21.40	-20.99

الشكل 18: التحقق من نوعية ارتباط زوج المرئسات مع التسلسل المطلوب باستخدام أداة ال MFEprimer والتي تبيّن وجود منتج وحيد بطول 384 زوج أساس.

أُجري تفاعل ال PCR لتضخيم منطقة الدنا المتضمنة ل SNP المستهدف والحصول على منتج نوعي بطول 384 زوج أساس bp. وفق الشروط التالية:

- احتوى التفاعل على 20 نانوغرام من ال DNA وأُضيف إليها 4 ميكرولتر ماء خالٍ من النكلياز free nuclease water ، و1 ميكرولتر مرئسات primers.
- إضافة 10 ميكرولتر عتيدة المزج الرئيس Master Mix الحاوية على إنزيم البوليميراز taq DNA polymerase.

- إضافة 2 ميكرولتر ثنائي ميثيل سلفوكسايد Dimethyl sulfoxide (DMSO) لتجنب ظهور منتجات أخرى غير مرغوبة.

ضُبطت الشروط ضمن جهاز المدور الحراري بحيث يحدث التمسخ البدئي لطاقي الدنا بدرجة حرارة 93 مئوية لمدة دقيقتين ونصف لتبدأ بعدها 35 دورة من برنامج (تمسخ بدرجة 93 مئوية لمدة 30 ثانية، تليها درجة تلدين 60.1 درجة مئوية لمدة 40 ثانية تسمح بارتباط المشرعات بالتسلسلات المتممة لها، ومن ثم استطالة بدرجة 72 لمدة 30 ثانية) وينتهي التفاعل باستكمال استطالة طيقان الدنا الجديدة بدرجة 72 درجة مئوية لمدة 7 دقائق.

6-5-4 الرحلان الكهربائي Electrophoresis

رُحلت نواتج تفاعلات ال PCR ضمن هلامة أغاروز 1.5% لتظهيرها والتأكد من جودتها قبل السلسلة Sequencing وقد تم تصويرها والتأكد من ظهور العصابة المطلوبة. كانت الخطوات كما هو مبين أدناه:

- حُضرت هلامة الأغاروز بتركيز 1.5% بوزن 0.6 غ من مسحوق الأغاروز في دورق مخروطي وإضافة 40 مل من محلول TAE 1X (وهو محلول يحتوي حمض الأسيتيك Tris base, acetic acid، مضاد التخثر EDTA Ethylene-Diamine-Tetraacetic Acid)، مع تحريك بشكل دائري والتسخين في الميكروويف حتى تمام ذوبان الأغاروز وتحول المحلول لسائل رائق. تُرك المحلول ليبرد بدرجة حرارة الغرفة وأُضيف 3 مكل من محلول بروميد الإيثيديوم (تركيز 10 ملغ/مل) وحُرك ليمتزج جيداً.
- صُب الهلام في القالب المخصص ببطء لتجنب ظهور الفقاعات، بعد وضع المشط في المكان المخصص له، وتُرك الهلام ليتصلب خلال 15 دقيقة.

- صُبت دارئة الرحلان TAE 1X المُحضرة مسبقاً بتمديد محلول TAE 50X بالماء المقطر.
- حُقن 5 مكل من سلم العياريات Ladder H3 RTU®، والذي يعطي عصابات DNA بتدرجات مئوية (100 شفع أساس)، في البئر الأول وحقن 10 مكل من كل عينة في بقية الآبار.
- أُحكم إغلاق الغطاء ووصل الجهاز لمصدر التيار الكهربائي ورُحلت العينات لمدة 25 ددقيقة بتيار شدته 250 أمبير وفرق كمونه 115 فولت.
- تم تصوير العصابات الناتجة بتعريض الهلامة للأشعة فوق البنفسجية.

6-5-5 السلسلة Sequencing

حسب البروتوكولات المتبعة من شركة Macrogen (سيؤول، كوريا الجنوبية)، تم تنقية منتجات تضخيم ال PCR إنزيمياً باستعمال EnzSAPTM ثم سلسلت بطريقة الرحلان الكهربي الشعري (CES) Capillary Electrophoresis Sequencing بالجهاز المسلسل ABI PRISM® 3730 XL Analyzer، وعتيدة السلسلة ABI PRISM® BigDye TM Terminator Cycle Sequencing Kit. قمنا بقراءة النتائج بعد ذلك باستعمال برمجية Chromas.

6-6 التحليلات الإحصائية Statistical Analyses

اعتمدنا لتحليل البيانات العديد من الاختبارات الإحصائية المناسبة باستخدام الحزمة الإحصائية للعلوم الاجتماعية Statistical Package for Social Sciences (SPSS) في إصدارها رقم 23، تمّ اختبار جميع الفرضيات باختبارات ثنائية الذيل عند مستوى دلالة 5%. وفيما يلي مجموعة من الاختبارات الإحصائية المستخدمة في تحليل البيانات واختبار فرضيات البحث:

– اختبار التوزيع الطبيعي: باستخدام اختبار Kolmogorov–Smirnov و Shapiro–Wilk وذلك للتحقق من التوزع الطبيعي لمتغيرات الدراسة.

– التحليل الوصفي لمفردات العينة، وذلك من خلال الجداول التكرارية والنسبة المئوية وذلك لمتغيرات النوعية، والمتوسط الحسابي والانحراف المعياري للمتغيرات الكمية الداخلة في الدراسة.

– دراسة الفروق بين متوسطات المتغيرات بحسب مجموعة المرضى والشواهد وذلك اعتماداً على اختبارات الفروق المعلمية واللامعلمية والتي تم اختيارها بناءً على نتائج التوزيع الطبيعي، وتفصيلها كما يلي:

اختبارات مقارنة المتوسطات الحسابية بين مجموعتين مستقلتين حيث استعمل اختبار t–student test للمجموعات المستقلّة وذلك للبيانات البارمترية ذات التوزّع الطبيعي، في حين اعتمد اختبار مان ويتني Mann Whitney U test للبيانات غير البارامترية لمقارنة المتوسطات الحسابية بين أكثر من مجموعتين، وأجري اختبار أنوفا Anova test لقارنة المتوسطات الحسابية بين أكثر من مجموعتين.

– دُرست العلاقة بين المتغيرات مثل (الكولسترول الكلي TC، البروتين الشحمي المنخفض الكثافة LDL، البروتين الشحمي مرتفع الكثافة HDL، الغليسريدات الثلاثية TG، غلوكوز المصل)، وألائل Apoe والأنماط الجينية مع الإصابة بداء ألزهايمر باستخدام اختبار Chi square للاستقلال و Fisher's Exact test، وكذلك العلاقة بين المتثابتات المصلية المدروسة وألائل Apoe وأنماطه الجينية.

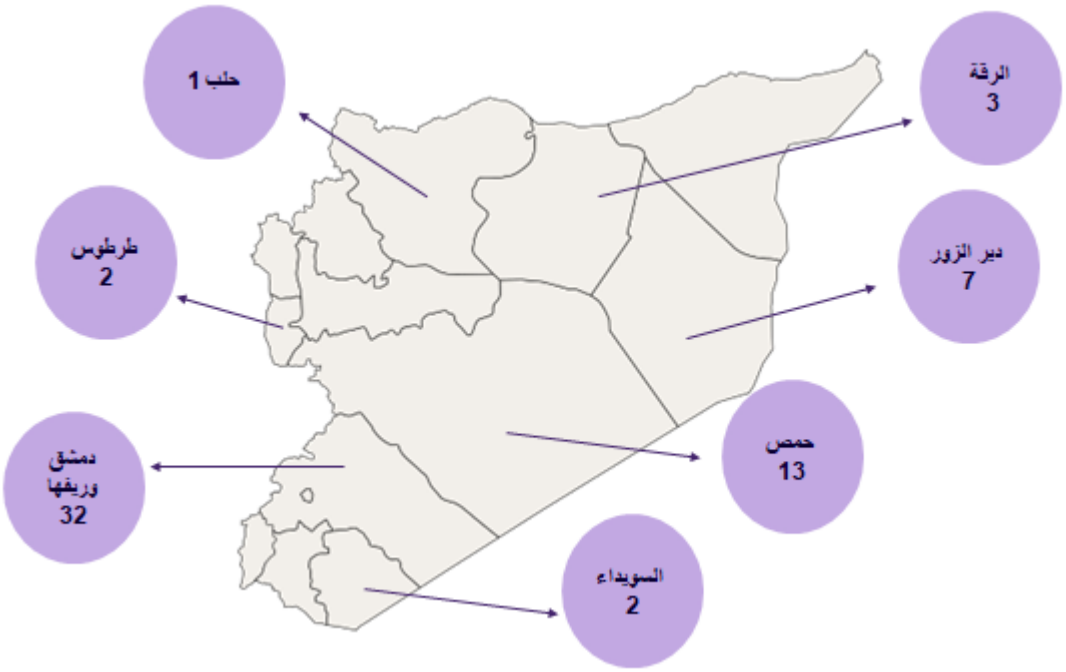
– أخيراً رسمت المخططات البيانية باستخدام برنامج Microsoft office excel 2019.

النتائج

Results

7-1 الخصائص الديموغرافية والسريرية لجمهرة الدراسة

بلغ عدد عينة الدراسة الكليّة 120 فرداً، توزعوا بصورة متساوية بين مجموعتي الحالات/المرضى (n=60) والشواهد (n=60). تراوحت أعمار المشاركين بين 65 -103 سنة بمتوسط حسابي قدره 77.8 عاماً وانحراف معياري بلغ 8.1 عاماً. شكّلت الإناث غالبية العينة المدروسة بنسبة قدرها 61.7% في حين لم تتجاوز نسبة الذكور 38.3%. كانت نسبة المدخنين 35% في العينة. توزّع أفراد الدراسة جغرافياً على محافظات القطر، كان العدد الأكبر من محافظتي دمشق وريفها، ويوضّح الشكل 19 توزّع مجموعة المرضى على المحافظات السورية.



الشكل 19: توزّع المرضى جغرافياً على المحافظات السوريّة.

لدى مقارنة الخصائص الديموغرافية لمجموعتي المرضى والشواهد، تقاربت المتوسطات الحسابيّة للأعمار بين المرضى (77.1 ± 8.4) والشواهد (78.5 ± 7.8) (P= 0.341). كما كانت نسبة الإناث متماثلة

في المجموعتين (P= 0.707). جاءت نسب المدخنين والمصابين بفرط التوتر الشرياني متقاربة بين المجموعتين (P= 0.444 و P= 0.144، على الترتيب)، أي كان هناك توافق بين مجموعتي المرضى والشواهد من ناحية العمر والجنس والتدخين والإصابة بارتفاع التوتر الشرياني، في حين كانت نسبة المرضى المشخّص لهم داء السكري أعلى في مجموعة الشواهد (21.7%) مقارنةً بمجموعة المرضى (8.3%)، وبفارق معتد به إحصائياً (P= 0.041). يوضح الجدول 7 المعلومات الديموغرافية والسريرية لذراعي الجمهرة (المرضى والشواهد) والمقارنة بينهما.

الجدول 7 الخصائص الديموغرافية والسريرية للمرضى والشواهد مع مقارنتها بين الذراعين

الصفة الديموغرافية/السريرية	**مرضى الألزهايمر (n=60)**	**الشواهد (n=60)**	قيمة ***P***
العمر (أعوام) المتوسط الحسابي±الانحراف المعياري	77.1 ± 8.4	78.5 ± 7.8	0.341
الجنس، العدد (%) **الذكور** **الإناث**	 (40) 24 (60) 36	 (36.7) 22 (63.3) 38	0.707
التدخين، العدد (%)	(38.3) 23	(31.7) 19	0.444
ارتفاع التوتر الشرياني، العدد (%)	(41.7) 25	(55) 33	0.144
الداء السكري، العدد (%)	(8.3) 5	(21.7) 13	**0.041**

7-2 المقايسات المخبرية لجمهرة الدراسة (شحميات الدم والغلوكوز الصيامي)

أُجريت المقايسات المخبريّة لاستعراف التراكيز المصليّة لكلٍّ من المتثابتات التالية: الكولسترول الكلي TC، والبروتين الشحمي منخفض الكثافة LDL-C، والبروتين الشحمي مرتفع الكثافة HDL-C، والغليسريدات الثلاثية TG، وغلوكوز المصل الصيامي وذلك لدى جميع أفراد الدراسة. بلغ المتوسط الحسابي للكولسترول

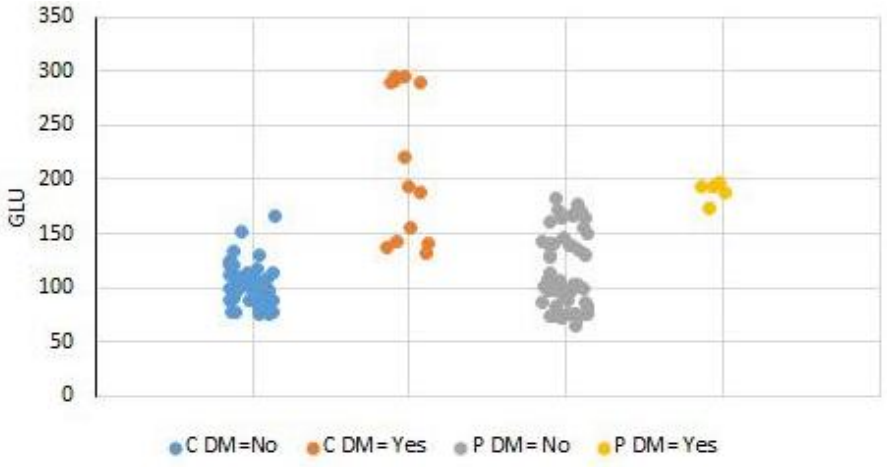
الكلي في مجموعة المرضى (166.85 ± 47.09) بينما في مجموعة الشواهد (156.45 ± 41.22)، أما المتوسط الحسابي للبروتين الشحمي منخفض الكثافة LDL في مجموعة المرضى فكان (97.75 ± 39.33) ولدى مجموعة الشواهد فبلغ (96.3 ± 34.27)، وبالنسبة للبروتين الشحمي مرتفع الكثافة HDL فتقاربت المتوسطات الحسابية لمجموعتي الجمهرة فبلغ لدى المرضى (43.29 ± 11.68) أما لدى الشواهد (42.74 ± 9.29)، وبلغ المتوسط الحسابي للغليسريدات الثلاثية في محموعة المرضى (134.95 ± 44.05) بينما في مجموعة الشواهد (155.75 ± 80.5)، وبلغ المتوسط الحسابي للغلوكوز الصيامي في مجموعة المرضى (121.44 ± 39.45) وفي مجموعة الشواهد (125.9 ± 58.39) لم يكن لقيمة P أي دلالة إحصائيّة. يوضح الجدول 8 الفروق في المتثابتات المخبرية بين جمهرتي الدراسة (المرضى والشواهد) بعد اعتماد القيم المرجعية المذكورة في أحدث التوصيات لكل من شحميات الدم[92]، والغلوكوز[93] المذكورة سابقاً.

الجدول 8: تصنيف أفراد جمهرة الدراسة (المرضى والشواهد) بناءً على القيم الطبيعية الحدية للمتثابتات المخبرية المدروسة (شحميّات وغلوكوز المصل).

المتثابت المخبري (مغ/دل)	**مرضى ألزهايمر** (n=60)	**الشواهد** (n=60)	**قيمة *P***
TC ، العدد (%)			
200≤ (طبيعي)	(80) 48	(86.7) 52	0.327
200> (مرتفع)	(20) 12	(13.3) 8	
LDL–C، العدد (%)			
100≤ (طبيعي)	(53.3) 32	(63.3) 38	0.267
100> (مرتفع)	(46.7) 28	(36.7) 22	
HDL–C، العدد (%)			
40> (منخفض)	(38.3) 23	(40) 24	0.843
40–60 (طبيعي)	(53.3) 32	(55) 33	

60< (مثالي)	5 (8.3)	3 (5)	
TG، العدد (%)			
150≤ (طبيعي)	38 (63.3)	33 (55)	0.353
150< (مرتفع)	22 (36.7)	27 (45)	
غلوكوز المصل، العدد (%)			
100< (طبيعي)	24 (40)	22 (36.7)	**0.015**
100–125 (ما قبل سكري)	8 (13.3)	21 (35)	
126≤ (سكري)	28 (46.7)	17 (28.3)	

تقارب التوزيع النسبي بين مجموعة المرضى والشواهد من ناحية الكولسترول الكلي، وLDL–C، وHDL–C، والغليسريدات الثلاثية في المصل حيث لم يكن هناك فروق إحصائية هامة (*P*= 0.327، *P*= 0.267، *P*= 0.843، *P*= 0.353) على الترتيب. أما بالنسبة لغلوكوز المصل الصيامي فكان للمرضى نِسب أعلى لقيم أكبر من 126 مقارنةً بالشواهد وبفارق إحصائي معتد به (*P*= 0.015). ويوضح الشكل 20 توزع عينة الدراسة (المرضى والشواهد) وفق أرقام الغلوكوز الصيامي بعد تصنيفهم إلى مشخصين بالداء السكري أم لا.



الشكل 20: توزع عينة الدراسة (المرضى والشواهد) وفق أرقام الغلوكوز الصيامي بعد تصنيفهم إلى مشخصين بالداء السكري أم لا. P= مرضى، C= شواهد

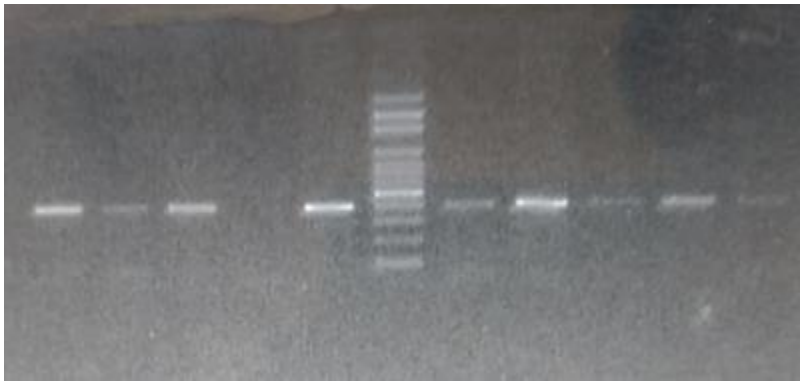
7-3 نتائج التنميط الجيني

7-3-1 نتائج استخلاص DNA الجينومي

نجح استخلاص ال DNA الجينومي لـ 100% من عينات أفراد الدراسة، وبلغ متوسط تراكيز ال DNA في العينات المستخلصة 29.5 نانوغرام/مكل، ومتوسط النقاوة 1.8.

7-3-2 نتائج تفاعلات الـ PCR والرحلان الكهربائي

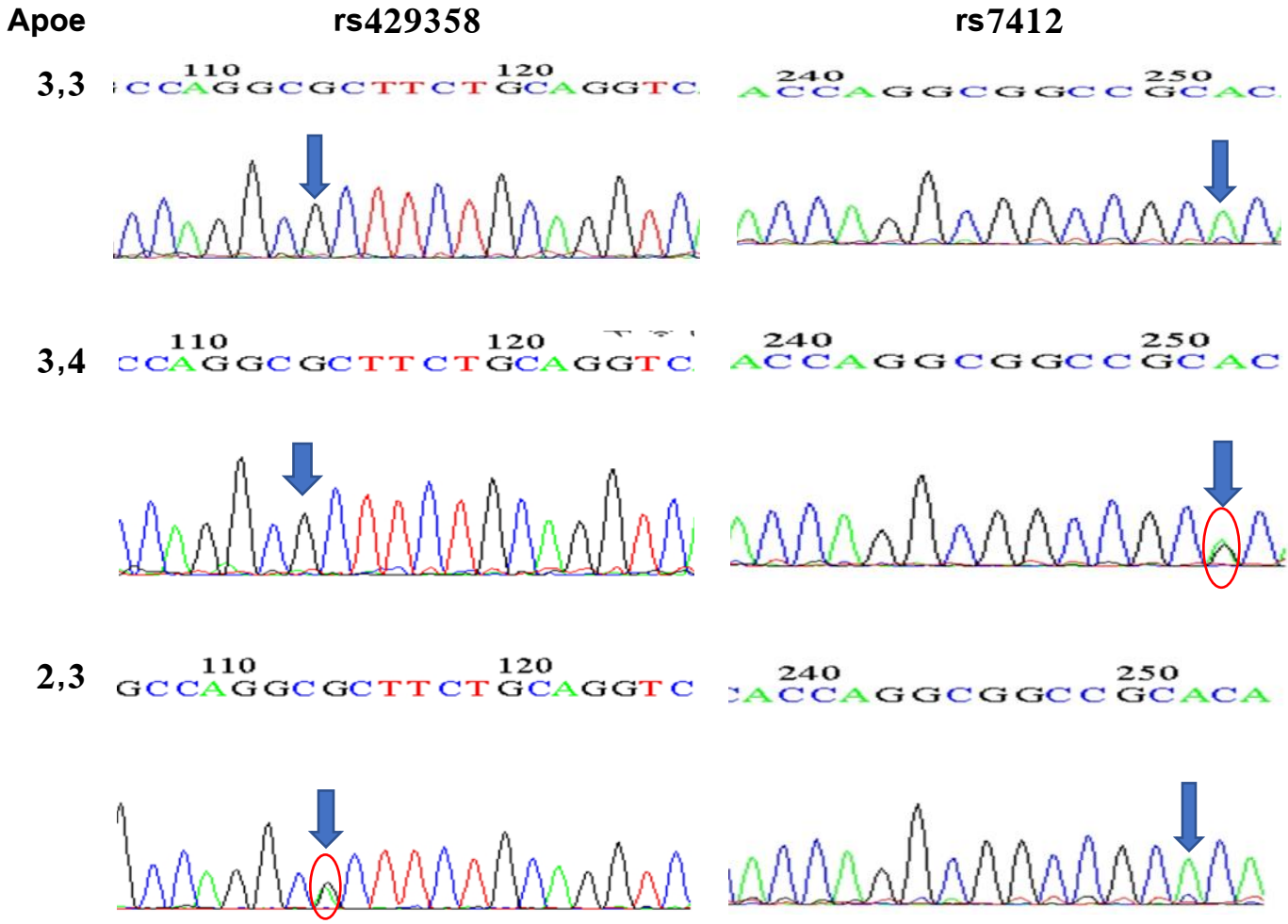
تمّت أمثلة تفاعلات الـ PCR، ونجح التفاعل لـ 116 عينة (60 مريض، و56 شاهد) بينما لم ينجح التفاعل لـ 4 عينات من الشواهد بسبب قلة تراكيز الدنا لهم. أعطى تفاعل PCR الخاص بالكشف عن التعددات الشكلية من جين Apoe وباستخدام المرئسات التي تمّ تصميمها من قبلنا، منتجاً وحيداً بطول بين 300 و 400 زوج أساس دون وجود أية منتجات ثانوية كما يبين الشكل 21.



الشكل 21: صورة لهلامة أغاروز بعد ترحيل منتجات تضخيم تفاعل الـ PCR، مع مقارنة المنتجات بسلم عياريّات من رتبة ال 100 زوج أساس (100 bp) لأطوال قطع الدنا.

7-3-3 نتائج السلسلة

تمكنّا من سلسلة منتجات ال PCR النوعية للتعددين الشكليين مفردي النكليوتيد rs429358 وrs7412 ل 85 عينة (47 مريضاً و38 شاهداً)، في حين لم تنجح السلسلة لباقي العينات بسبب عدم كفاية ناتج ال PCR الذي وصل لشركة Macrogen في كوريا. يمثل الشكل 22 نماذج للمخططات الاستشرابية chromatograms للأنماط الجينية الثلاثة والتي أظهرت السلسلة وجودها في العينات المدروسة، وهي النمط الجيني الشائع Wild Type (Apoe 3,3)، والنمطين متخالفي الزيجوت (Apoe 3,4، و Apoe 2,3).



الشكل 22: الأنماط الجينية الثلاثة من خلال المخطط الاستشرابي Chromatogram لتسلسل الدنا في الإكسون الرابع لجين APOE.

7-4- تواتر التعددات الشكلية

توزّعت عينة الدراسة المنمطين جينياً (n=85) على ثلاثة أنماط جينية وكان للنمط الجيني متماثل الألائل Apoe 3,3 التواتر الأعلى بنسبة قدرها 81.1% لكامل العينة (94.7% من الشواهد و 70.2% من المرضى)، تلاه النمط متخالف الألائل Apoe 3,4 بنسبة بلغت 14.1% لكامل العينة (0% من الشواهد و25.5% من المرضى)، وأخيراً، بلغت نسبة حاملي النمط متخالف الألائل Apoe 2,3 في العينة الكليّة 4.7% (5.3% من الشواهد، و4.7% من المرضى). لم يظهر أي من الأنماط Apoe 2,2 أو Apoe 2,4 أو Apoe 4,4 في أفراد الدراسة. يُبيّن الجدول 9 تواتر الأنماط الجينية لدى العينة المدروسة والفروق الإحصائية بين المرضى والشواهد.

الجدول 9: مقارنة تواتر الأنماط الجينية للتعدد الشكلي في الجين المرمزة لـ Apoe بين مجموعتي المرضى والشواهد.

النمط الجيني	**مرضى الألزهايمر (n=47)**، العدد (%)	**الشواهد (n=38)**، العدد (%)	**قيمة *P***
Apoe 3,4	12 (25.5)	0	**0.001**
Apoe 3,3	33 (70.2)	36 (94.7)	
Apoe 2,3	2 (4.7)	2 (5.3)	
Apoe 2,2	0	0	
Apoe 2,4	0	0	
Apoe 4,4	0	0	

تبين من خلال إجراء اختبار بيرسون Pearson Chi-Square وجود علاقة إحصائية هامة بين النمط الجيني Apoe 3,4 وحدوث داء ألزهايمر (P= 0.001) أي أنّ الأليل ε4 شكّل عامل خطر لحدوث داء ألزهايمر لدى السوريين.

بلغ تواتر الأليل ε4 (7.1%) لدى عينة الدراسة الكاملة، حيث اقتصر ظهور الأليل على اثني عشر مريض ألزهايمر بنسبة قدرها (12.8%)، بينما لم يمتلك أيّاً من الشواهد أليل الخطورة ε4 (0%) وبلغت قيمة P 0.0072. بينما كان الأليل ε3 هو الأشيع في عينة الدراسة حيث بلغ تواتره (90.6%) وكانت النسبة لدى المرضى (85.1%) بينما لدى الشواهد (97.4%). كان الأليل ε2 هو الأقل تواتراً بنسبة (2.3%) من كامل العينة (2.1% من المرضى و2.6% من الشواهد). يظهر الجدول 10 تواتر الألائل الثلاثة ε2, ε3, ε4.

الجدول 10: مقارنة تواتر الألائل في الجين المرمزة لـ Apoe بين مجموعتي الشواهد والمرضى.

الأليل	مرضى ألزهايمر (n=47)، العدد (%)	الشواهد (n=38)، العدد (%)	قيمة ***P***
ε2	2 (2.1)	2 (2.6)	**0.0072**
ε3	80 (85.1)	74 (97.4)	
ε4	12 (12.8)	0 (0)	

لدى إجراء مقارنة لتوزّع الأنماط الجينية بين المرضى والشواهد الذكور من جهة وبين المريضات والشواهد الإناث من جهة تبيّن أنّ مرضى ألزهايمر الذكور كان لديهم أليل الخطورة ε4 بتواتر (19.4%) والنمط الجيني المتهم Apoe 3,4 بتواتر (38.9%) وهي نسب أعلى مقارنةً بالإناث حيث كان تواتر الأليل ε4

لديهنّ (8.6%) وتواتر النمط الجيني Apoe 3,4 (17.2). يظهر الجدول 11 الفروق الإحصائية في التنميط الجيني بين المرضى والشواهد لدى الذكور والإناث في العينات المدروسة.

الجدول 11: مقارنة الأنماط الجينية والألائل لدى الإناث والذكور في العينة المدروسة بين مجموعتي المرضى والشواهد

النمط الجيني	**الإناث (n=51)**، العدد (%)			الذكور **(n=34)**، العدد (%)		
	المرضى (n=29)	**الشواهد (n=22)**	قيمة ***P***	المرضى **(n=18)**	الشواهد **(n=16)**	قيمة ***P***
Apoe 3,4	(17.2) 5	(0) 0	0.06	(38.9) 7	(0) 0	**0.003**
Apoe 3,3	(79.3) 23	(90.9) 20		(55.5) 10	(100) 16	
Apoe 2,3	(3.4) 1	(9.1) 2		(5.6) 1	(0) 0	
الألائل						
ε4	(8.6) 5	(0) 0	0.053	(19.4) 7	(0) 0	**0.008**
ε3	(89.7) 52	(95.5) 42		(77.8) 28	(100) 32	
ε2	(1.7) 1	(4.5) 2		(2.8) 1	(0) 0	

7-5- توازن هاردي-واينبرغ HWE

يظهر الجدول 12 توافقاً بين تواتر الأنماط الجينية المشاهدة في عينة الدراسة وتلك المتوقعة وفق توازن هاردي واينبرغ HWE، وكان الفارق الإحصائي غير معتد به إحصائياً (قيمة **P** أكبر من 0.05).

الجدول 12: توازن هاردي واينبرغ للعينة المدروسة								
النمط الجيني	مرضى ألزهايمر (%)			الشواهد (%)			كامل العينة (%)	
	المشاهد	المتوقع	قيمة P	المشاهد	المتوقع	قيمة P	المشاهد	المتوقع	قيمة P
2,3	4.3	3.4	0.99	5.3	10	0.67	4.7	4.2	0.99
3,3	70.2	72.2		94.7	89.7		81.2	82.1	
3,4	25.5	22.1		0	0.3		14.1	12.9	

7-6- علاقة الأنماط الجينية بشحميات وغلوكوز المصل

قمنا بمقارنة التراكيز المصليّة لشحميّات الدم (الكولسترول الكلي، LDL، HDL، الغليسريدات الثلاثية) والغلوكوز تبعاً للأنماط الجينيّة الثلاثة من خلال اختبار Chi-Square. تبيّن أنّ النمط الجيني لـ Apoe لم يؤدي لاضطراب في أي من شحميات الدم أو الغلوكوز الصيامي ويبين الجدول 13 هذه النتائج.

الجدول 13: علاقة الأنماط الجينية مع شحميات وغلوكوز المصل عند كامل العينة.				
المتغير المخبري (مغ/دل)	**النمط الجيني Apoe**			**قيمة *P***
	3,4 (n=12)، العدد (%)	**3,3** (n=69)، العدد (%)	**2,3** (n=4)، العدد (%)	
TC				0.988
≤200	(83.3) 10	(82.6) 57	(100) 4	
>200	(16.7) 2	(17.4) 12	(0) 0	
LDL-C				0.094
≤100	(33.3) 4	(63.8) 44	(50) 2	
>100	(66.7) 8	(36.2) 25	(50) 2	

HDL-C				0.390
<40	(50) 6	(39.1) 27	(50) 2	
40-60	(50)6	(55.1) 38	(25) 1	
>60	(0) 0	(5.8) 4	(25) 1	
TG				0.606
≤150	(50) 6	(62.3) 43	(50) 2	
>150	(50) 6	(37.7) 26	(50) 2	
غلوكوز المصل				0.159
<100 (طبيعي)	(58.3) 7	(33.3) 23	(75) 3	
100-125 (ما قبل سكري)	(8.3) 1	(30.4) 21	(25) 1	
≥126 (سكري)	(33.3) 4	(36.3) 25	(0) 0	

كما يظهر الجدول 14 مقارنة لشحميات وغلوكوز المصل بين المرضى والشواهد نسبةً للنمط الجيني. لم يتبيّن وجود ارتباط بين النمط الجيني وأي من اضطرابات شحميات الدم أو غلوكوز المصل في أيّ من المجموعتين (المرضى أو الشواهد)، حيث لم تظهر فوارق إحصائية هامّة (قيمة P أكبر من 0.05).

الجدول 14: مقارنة شحميات الدم وغلوكوز المصل بين المرضى والشواهد وفق الأنماط الجينية ل Apoe.

المتغير المخبري (مغ/دل)	**المرضى** (n=47)			قيمة ***P***	**الشواهد** (n=38)		قيمة ***P***
	APOE				**APOE**		
	2,3	**3,3**	**3,4**		**2,3**	**3,3**	
TC							
≤200	(4.2) 2	(53.2) 25	(21.2) 10	0.822	(5.2) 2	(84.2) 32	0.998
>200	(0) 0	(17) 8	(4.2) 2		(0) 0	(10.5) 4	
LDL-C							
≤100	(2.1) 1	(40.4) 19	(8.5) 4	0.295	(2.6) 1	(65.8) 25	0.538
>100	(2.1) 1	(29.8) 14	(17) 8		(2.6) 1	(29) 11	
HDL-C							
<40	(2.1) 1	(23.4) 11	(12.7) 6	0.716	(2.6) 1	(42.2) 16	0.05

40–60	(2.1) 1	(40.4) 19	(12.7) 6		(0) 0	(2.6) 1	(50) 18
>60	(0) 0	(6.4) 3	(0) 0		(2.6) 1	(2.6) 1	(2.6) 1
TG							
≤150	(4.2) 2	(44.7) 21	(12.7) 6	0.409	(0) 0	(5.3) 2	(57.9) 22	0.171
>150	(0) 0	(25.5) 12	(12.7) 6		(5.3) 2	(12.7) 6	(36.8) 14	
الغلوكوز							
<100	(4.2) 2	(12.9) 11	(14.9) 7	0.346	(2.6) 1	(31.5) 12	0.989
100–125	(0) 0	(7) 6	(2.1) 1		(2.6) 1	(39.5) 15	
≥126	(0) 0	(34) 16	(8.5) 4		(0) 0	(23.6) 9	

المناقشة

Discussion

تعد دراستنا الأولى من نوعها في سورية التي درست تواتر أليل Apoe ε4 لدى مرضى ألزهايمر سوريين وشواهد أصحاء عقلياً من الفئة العمرية ذاتها لمعرفة علاقة هذا الأليل بالإصابة بداء ألزهايمر في سورية. دعمت النتائج التي توصلنا إليها وجود علاقة بين امتلاك الأليل ε4 والإصابة بداء ألزهايمر وسنفصّل في الفقرات القادمة نتائج دراستنا ونقارنها بنتائج الدراسات المشابهة من بلدان عربية مجاورة وبلدان من كافة أنحاء العالم.

8-1- نتائج تفاعل الـ PCR والرحلان

يمتلك جين Apoe البشري عدة تعددات شكلية، أهمّها التعددان الشكليان مفردا النيوكليوتيد (rs429358 وrs7412) واللذان ينجم عنهما ثلاثة ألائل مختلفة (ε2، وε3، وε4). تم تطوير عدة طرق للتنميط الجيني لـ Apoe. تُعد سلسلة الحمض النووي طريقة دقيقة للتنميط الجيني لـ Apoe (Zhong et al., 2016)، اعتمدنا في دراستنا على طريقة السلسلة واستطعنا بزوج واحد من المرئسات استهداف التعددين الشكليين بالرغم من أن مواقعهما متباعدة نسبياً، وهذا يميز دراستنا عن الدراسات المشابهة الأخرى.

8-2- تواتر الألائل ε2 وε3 وε4

أظهرت دراستنا تواتراً كبيراً للأليل ε3 في العينة المدروسة المرضى والشواهد (90.6%)، يليه الأليل ε4 بنسبة (7.1%)، في حين سجّل الأليل ε2 التواتر الأدنى بنسبة لم تتجاوز (2.3%)، وهي نسب متقاربة مع الدراسات العربية والعالمية المشابهة. حيث بلغ تواتر الأليل ε3 لدى اللبنانيين نسبةً قدرها 87% في دراسة El Shamieh وزملائه (2019) (Shamieh et al., 2019) وبلغ تواتر الأليل ε4 نسبة 7%، والأليل ε2 6%. وتباينت النسب لدى العراقيين قليلاً، ففي دراسة Sirwan وزملائه (2021) (Al-Jaf,

(2021 كان تواتر الأليل ε3 90.4%، إذ في حين تطابقت نسبة تواتر الأليل ε3 مع دراستنا، غير أنّ الأليل ε2 كان تواتره 6.1% والأليل ε4 كان الأقل شيوعاً بتواتر 3.5%. يلخص الجدول 15 تواتر الأليل ε4 في الشرق الأوسط لدى مرضى ألزهايمر من خلال دراسات حالة – شاهد مشابهة لنمط دراستنا.

الجدول 15: تواترات أليل ε4 في دول الشرق الأوسط

المجموعة المدروسة	الدراسة	السنة	عدد أفراد الدراسة		تواتر أليل ε4، (%)		قيمة *P*
			مرضى	أصحاء	مرضى	أصحاء	
سوريون	دراستنا الحالية	2024	47	38	12.8	0	0.007
لبنانيون	El Shamieh et al (Shamieh et al., 2019)	2019	78	56	20	7	0.01
أردنيون	Shafagoj et al (Shafagoj et al., 2018)	2018	38	33	15.8	4.5	0.03
مصريون	Desoky et al (Desoky et al., 2024)	2024	50	50	14.8	5.3	0.01
تونسيون	Fray et al (Fray et al., 2022)	2022	144	90	25.3	11.7	0.002
أتراك	Çinleti et al (Acar ÇiNleti et al., 2015)	2015	49	45	18.4	10	0.099
إيرانيون	Ghayeghran et al (Ghayeghran et al., 2017)	2017	70	100	25	5.5	0.001

في دراستنا، كان أليل الخطورة ε4 مقتصراً على مجموعة مرضى الألزهايمر وبنسخة مفردة في المرضى الاثني عشر بتواتر (12.8%)، وبلغ تواتر النمط الجيني Apoe 3,4 (25.5%) أما في مجموعة الشواهد

فلم يسجّل له تواجد (0%). تتفق نتائجنا مع العديد من الدراسات الفرنسية (Chartier-Hariln et al., 1994)، والكندية(Bétard et al., 1994)، اليونانية(Cariolou et al., 1995)، واليابانية (Takei et al., 2009) التي وجدت أن الأليل ε4 هو عامل اختطار لحدوث داء ألزهايمر. ففي الدراسة الكندية التي أجراها Betrad وزملاؤه، كان تواتر أليل ε4 36.4% من مرضى ألزهايمر بينما تواتر الأليل ε2 كان 10% من المرضى. في الدراسة اليابانية التي أجراها Takei وزملاؤه، كان تواتر أليل ε4 26.9% لدى مرضى ألزهايمر متأخر البدء مقابل 8.7% لدى الشواهد.

ومع ذلك، لم يكن هذا الارتباط مثبتاً لدى جميع الإثنيات، فكما أوضحت دراسات أخرى لم يشكل فيها أليل ε4عامل اختطار لداء ألزهايمر، وكانت هذه الدراسات في كينيا(Gureje et al., 2006)، نيجيريا(Sepehrnia et al., 1989)، الكاميرون(Osuntokun et al., 1995)، وكانت الجمهرات السكانية المدروسة من أصول إفريقيّة وبعض الدراسات الأخرى التي تتعلق بالأمريكيين السود واللاتينيين(Belloy et al., 2019). في كينيا عام 2006 قام Gureje وزملاؤه بدراسة علاقة Apoe ε4 مع داء ألزهايمر، تبيّن أن تواتر الأليل ε4 26% لدى مرضى ألزهايمر مقابل 21.7% لدى الشواهد(Gureje et al., 2006). أما في دراسة Sepehrnia وزملائه على النيجريين كان تواتر الأليل ε4 16.7% لدى مرضى ألزهايمر و20.5% لدى الشواهد(Sepehrnia et al., 1989).

توزّع مرضى دراستنا في ثلاثة أنماط جينية وهي النمط المتماثل الزيجوت للأليل اشائع Apoe 3,3، والنمطين متخالفي اللواقح Apoe 3,4، وApoe 2,3، ولم تسجّل دراستنا أيّاً من الأنماط الجينيّة Apoe2,2، وApoe 4,4، وApoe 2,4. يوضح الجدول 16 الأنماط الجينية في بعض الدول العربية.

الجدول 16: مقارنة تواتر الأنماط الجينية بين دراستنا ودراسات من الدول العربية									
المجموعة المدروسة	الدراسة	السنة	مرضى شواهد	تواتر الأنماط الجينية ل Apoe					
				ε3/4 (%)	ε2/4 (%)	ε2/3(%)	ε4/4 (%)	ε3/3 (%)	ε2/2 (%)
السورية	دراستنا الحالية	2024	47	25.5	0	4.2	0	70.3	0
			38	0	0	5.1	0	94.4	0
اللبنانية	El Shamieh et al (Shamieh et al., 2019)	2019	78	37	1.3	6.4	1	53	1.3
			56	14	0	2	0	79	5
الأردنية	Shafagoj et al (Shafagoj et al., 2018)	2018	38	26.3	0	10.5	2.6	60.5	0
			33	3	6.1	3	0	87.9	0
السعودية	Al-Khedhairy et al (Al-Khedhairy, 2004)	2004	67	31.3	0	0	0	68.6	0
			83	24	0	0	3.6	72.2	0
المصرية	Desoky et al (Desoky et al., 2024)	2024	50	44	0	0	0	50	6
			50	10	0	0	0	70	20
التونسية	Fray et al (Fray et al., 2022)	2022	144	26.4	2.1	6.2	11.1	54.2	0
			90	15.6	1.1	7.8	3.3	71.1	1.1

نظراً لندرة الأليل ε2 وانخفاض تواتره، فقد انعدمت بعض الأنماط الجينيّة مثل Apoe 2,2 وApoe 2,4 في جمهرة دراستنا ونلاحظ أن هذه الأنماط لم تكن موجودة في بعض الدراسات الأخرى، فالنمط Apoe 2,4 لم يكن موجوداً لدى المصريين والسعوديين، أما النمط Apoe 2,2 لم يتواجد لدى الأردنيين والسعوديين. لم تسجّل دراستنا أي مريض يحمل النمط متماثل الزيجوت لأليل الخطورة Apoe 4,4 ,لم يكن موجوداً لدى المصريين أيضاً. تقاربت تواتر الأنماط الجينيّة في دراستنا مع الدراسات الأخرى، فالنمط Apoe 3,4

والذي كان تواتره لدى مجموعة المرضى في دراستنا 25.5%، ولدى مرضى ألزهايمر الأردنيين فكان التواتر 26.3% والمرضى التونسيين 26.4%، وكان التواتر أعلى قليلاً لدى المرضى اللبنانيين، والسعوديين بتواتر 37، و31.3% على الترتيب، أما لدى المصريين فكان تواتر هذا النمط الجيني مرتفعاً بشكل واضح 44% وهذا يعود لتواتر الأليل ε4 المرتفع في إفريقيا (40% تقريباً)(Corbo & Scacchi, 1999).

كان لافتاً التواتر المتباين للأليل ε4 بين الجنسين لدى مريضات ومرضى ألزهايمر حيث برهنت نتائجنا على تواتر أعلى لأليل الخطورة ε4 لدى مرضى الألزهايمر بنسبة (19.4%) بالمقارنة مع المريضات اللواتي بلغ تواتر الأليل ε4 لديهنّ (8.6%)، وهذا يميز دراستنا عن المعروف عالمياً، حيث وجد أن النساء اللواتي يمتلكن نسخة واحدة من الأليل ε4 أي نمط جيني متخالف الألائل (ε2/4 أو ε3/4) لديهنّ زيادة كبيرة في خطر الإصابة بداء ألزهايمر مقارنةً بالرجال الذين يملكون نسختين من الأليل ε4 أي النمط الجيني متماثل الألائل (ε4/4)[84]. في دراسة Sampedro وزملائه في عام 2015، أظهرت الإناث الحاملات للأليل Apoe ε4 نقصًا في الاستقلاب أكثر بتصوير PET وضموراً قشرياً أكبر من الحاملين الذكور(Sampedro et al., 2015). وفي دراسة Altmann عام 2014 أظهرت النتائج أنّ حاملات أليل ε4 كان لديهن خطر أعلى من الحاملين الذكور لتطوير داء ألزهايمر والواسمات الحيوية بالسائل الدماغي الشوكي (نقص الأميلوئيد بيتا 42 وارتفاع بروتين التاو) كانت أوضح لدى حاملات الأليل الإناث مقارنةً بالذكور(Altmann et al., 2014).

8-3- علاقة شحميات المصل بداء ألزهايمر

لم تدعم النتائج التي توصلنا إليها في هذه الدراسة وجود علاقة بين ارتفاع مستويات TC وLDL-C وHDL-C في الدم وداء ألزهايمر، وكان هذا مشابهًا لنتائج دراسة أجراها Reitz وآخرون (Reitz et al.,

(2004، والتي على النقيض أفادت بأن هناك علاقة عكسية بين ارتفاع مستويات TC المصلي ومعدلات حدوث داء الألزهايمر. في عام 2020، كشف التحليل التلوي meta analysis الذي شمل 100 دراسة، أن مستويات TG وHDL-C وTC لم تكن واسمات حساسة لداء ألزهايمر، ولكن متوسط مستويات LDL-C كانت أعلى لدى الأفراد المصابين بألزهايمر (Sáiz-Vazquez et al., 2020). كشفت العديد من الدراسات أن المستويات المصلية ل HDL-C لا علاقة لها بداء ألزهايمر (Wu et al., 2019; Xu et al., 2015)، في حين توصّل آخرون إلى وجود خطر أعلى للإصابة بألزهايمر مرتبط بانخفاض مستويات HDL-C (Carleton et al., 1991). من النظريات المقترحة أنّ HDL-C يمكن أن يوفّر الحماية ضد اضطرابات الأوعية الدموية الدماغية لدى الأفراد المصابين بألزهايمر (Button et al., 2019)، وقد يُعزى التأثير الوقائي المفترض لـ HDL لخصائصه المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب(Reitz et al., 2010).

اقترح Zhen Zhou وزملاؤه أن كبار السن الذين لديهم مستويات مرتفعة من الغليسريدات الثلاثية يمكن أن يكونوا أقل عُرضة لداء ألزهايمر ويكون التدهور الإدراكي متباطئاً على عكس أولئك الذين لديهم مستويات غليسريدات ثلاثية منخفضة(Z. Zhou et al., 2023). كما لاحظ Bernath وزملاؤه أيضًا وجود ارتباط كبير بين انخفاض مستويات الغليسريدات الثلاثية ووجود ضعف إدراكي معتدل Mild Cognitive Impairment (MCI) بالإضافة إلى داء ألزهايمر (Bernath et al., 2020). بينما ذكرت دراسة أجراها Nagga وآخرون أن التراكيز المرتفعة من الغليسريدات الثلاثية في منتصف العمر تشير إلى تطور أمراض بيتا أميلوئيد وتاو في الدماغ بعد عقدين من الزمن(Nägga et al., 2018). تجري فرق بحثيّة حالياً دراسات لتحرّي تأثير الأنظمة الغذائية (مثل الحمية الكيتونية، والنظام الغذائي للبحر الأبيض المتوسط) كتدابير وقائية محتملة ضد داء ألزهايمر (Norwitz et al., 2021).

8-4- علاقة غلوكوز المصل بداء ألزهايمر

تم إطلاق مصطلح "السكري النمط الثالث" على داء ألزهايمر، حيث وجدت تجمعات الأميلوئيد في الجزر البنكرياسية المحيطة بخلايا بيتا في أكثر من 90% من المصابين بداء السكري من النمط الثاني (Epstein et al., 1989). أشارت الدراسات إلى أن بنية بيتا أميلوئيد في الجزر البنكرياسية والدماغ متشابهة(BlÃizquez et al., 2014).

في هذه الدراسة، تدعم النتائج التي توصلنا إليها وجود علاقة بين ارتفاع مستويات الغلوكوز المصلي والإصابة بألزهايمر، وكان هذا مشابهًا لنتائج دراسة أجراها Moran وآخرون(Moran et al., 2023)، والتي برهنت أن البالغين الذين كان لديهم خضاب غلوكوزي HbA1c بنسبة 9٪ أو أعلى، لديهم احتمال خطر أعلى للإصابة بداء ألزهايمر. وفقاً ل Zhang وزملائه، ترتبط مستويات الغلوكوز المرتفعة في منتصف العمر بشكل كبير بالإصابة بداء الزهايمر بعد عدة عقود(Zhang et al., 2023). في عام 2018، أفاد Burns وزملاؤه أن المستويات المرتفعة من الغلوكوز قد تترافق مع التبدلات الشعاعية المشاهدة بداء ألزهايمر(Burns et al., 2018). من ناحية أخرى، ذكرت دراسة Huang وزملاؤه عام 2024 أن خفض الغلوكوز إلى مستويات منخفضة يسبب تغيرات شبيهة بألزهايمر في الخلايا العصبية القشرية(Huang et al., 2023).

لدى استجوابنا لأفراد الدراسة أو لمرافقيهم أو مقدمي الرعاية الصحية لهم ومراجعتنا للأدوية التي يتناولونها، تبيّن أنّ 21.7% من مجموعة الشواهد كانت مشخصة بداء السكري النمط الثاني وتتلقى معالجة بخافضات الغلوكوز الفموية مقابل 8.3% من مرضى ألزهايمر، وبفارق ذي دلالة إحصائية ($P= 0.041$)، إلّا أنّه لدى إجراءنا مقايسات الغلوكوز الصيامية اتّضح أن نسبة المرضى الذين لديهم مستويات غلوكوز صيامي

أعلى من 126 مغ/دل (46.7%) كانت أعلى من نسبة الشواهد (28.3%) بفارق ذي دلالة إحصائية ($P= 0.015$)، وقد تشير هذه النتائج إلى أنّ اضطراب استقلاب الغلوكوز يمثّل مشكلة صامتة لدى مرضى ألزهايمر، وبالتالي لا يتلقّى المرضى المعالجة المناسبة.

8-6- علاقة ألائل الـ Apoe مع الشحميات والغلوكوز في المصل

لم تظهر دراستنا وجود علاقة بين ألائل الـ Apoe مع اضطراب في أيّ من شحميات الدم (الكولسترول، أو LDL-C، أو HDL-C، أو الغليسريدات الثلاثية). أظهرت العديد من الدراسات السابقة وجود صلة بين أليل ε4 واضطراب شحميات الدم. فقد دعمت نتائج Mendez وزملائه وجود علاقة عكسية بين مستويات الغليسريدات الثلاثية في البلازما وε4 (Pablos-Méndez et al., 1997). في دراسة على جمهرة إيرانية، لاحظ Isbir وزملاؤه أيضًا ارتفاع في تراكيز الكوليسترول الكلي لدى حاملي الأليل ε4 وانخفاض التراكيز لدى حاملي ε2 بين مرضى ألزهايمر (Isbir et al., 2001)، ورغم ذلك لم يكن أي من هذه الفروقات ذا دلالة إحصائية لدى Isbir ($P> 0.05$). كما لم يتم التوصل لأي علاقة بين النمط الجيني والشحميات في دراسة El Shamieh وزملائه التي تمت على جمهرة من اللبنانيين (Shamieh et al., 2019).

لم تتوصّل دراستنا إلى وجود علاقة بين نمط Apoe وتراكيز الغلوكوز الصيامي لدى المرضى أو الشواهد، وهذا مشابه لنتيجة دراسة Gallego وزملاؤه(Mateo-Gallego et al., 2023) في الدراسة التي تم إجراؤها عام 2023، حيث لم يظهر ترافق بين الداء السكري النمط الثاني والنمط الجيني ل Apoe ولم يظهر فرق في تراكيز الغلوكوز أو الخضاب الغلوكوزي أو حتى في الأنسولين. بينما في الدراسة الباكستانية الحديثة التي أجراها Nadeem ورفاقه عام 2024 كان النمطان الجينيان ε3/4 وε4/4 هما الأشيع لدى

مرضى السكري وترافقا أكثر بالاختلاطات الوعائية كالحوادث الوعائية الدماغية ونقص التروية القلبية(Nadeem et al., 2024).

الاستنتاجات والتوصيات

9-1- الاستنتاجات

توصّلنا من خلال دراستنا إلى أنّ الأليل Apoe ε4 هو عامل اختطار لحدوث داء ألزهايمر في المجتمع السوري وهذا مشابه لأغلب المجتمعات العربية والعالمية، حيث امتلك ربع مرضى ألزهايمر في العينة المدروسة أليل الخطورة ε4. تبيّن أنّ الأليل الأشيع هو Apoe ε3 وأنّ الأليل Apoe ε2 هو الأندر، وهذا مشابه أيضاً لأغلب الدراسات التي تم إجراؤها سابقاً حول العالم. لم يظهر تأثير واقٍ لأليل ε2 من الإصابة بداء ألزهايمر، لكن لا يمكننا تعميم هذا الاستنتاج بسبب قلة عدد حاملي الأليل في العينة المدروسة.

أظهرت دراستنا أن نسبة مرضى ألزهايمر الذكور الذين امتلكوا أليل الخطورة ε4 كانت أعلى بحوالي الضعف من نسبة المريضات الإناث الذين امتلكو أليل الخطورة، أي امتلاك الأليل Apoe ε4 شكّل عامل اختطار لدى الذكور أكثر من الإناث، وهذه نقطة مميزة بدراستنا.

لم يكن هناك ارتباط بين النمط الجيني ل Apoe واضطرابات شحميات الدم أو غلوكوز المصل. كما لم يكن هناك ارتباط بين أي اضطراب في شحميات الدم والاستعداد لداء ألزهايمر. بينما ارتبط ارتفاع تراكيز الغلوكوز الصيامي التي تمت قياسها في دراستنا بالإصابة بداء ألزهايمر، بالرغم من أن نسبة مرضى ألزهايمر المُشخّص لهم الداء السكري والمعالجين كانت أقل من نسبة الشواهد.

9-2- التوصيات

- إجراء التنميط الجيني لـ Apoe خاصةً لدى الذكور التي بدأ لديهم اضطراب في الذاكرة أو لديهم أُهبة عالية لداء ألزهايمر (قصة عائلية) حيث تبيّن أن الأليل Apoe ε4 شكّل عامل اختطار لداء ألزهايمر في المجتمع السوري خاصةً لدى الذكور.

- إجراء دراسات حشدية متعددة المراكز على جمهرة كبيرة.
- مراقبة غلوكوز المصل وضبط ارتفاعه، فارتفاعه الصامت غير المُعالج شكّل عامل اختطار لحدوث داء ألزهايمر في دراستنا.
- إجراء التنميط الجيني لـ Apoe في حال توفّر العلاجات الحديثة من أضداد وحيدة النسيلة في سورية قبل تطبيقها.

9-3- حدود الدراسة

- صغر حجم العينة، وذلك لمجموعة من الأسباب:

1. التكلفة الباهظة للاختبارات الجينية.
2. إصابة العديد من كبار السن بداء ألزهايمر وغيرها من العتاهات دون مراجعة مشافي أو عيادات واعتبارها شيء طبيعي مع التقدم بالسن.

- اعتمادنا في وضع التشخيص على معايير سريرية بسبب استحالة معايرة Aβ 40/42 أو بروتين التاو على السائل الدماغي الشوكي لعدم توفرها في سورية وثمنها الباهظ.

9-4 نقاط القوة في الدراسة

تُعد دراستنا الأولى من نوعها في سورية التي قيمت علاقة أليل Apoe ε4 مع داء ألزهايمر. قدّمت دراستنا أسلوباً مميزاً باستكشاف تعددين شكليين في منتج تفاعل PCR واحد وزوج واحد من المرئسات، كما تُعد طريقة السلسلة من أكثر الطرق دقة في تحديد النمط الجيني وهي أقوى من باقي الطرق وأكثر كلفةً.

9-5 نقاط الضعف في الدراسة

- عدم القدرة على معرفة توقيت بدء داء ألزهايمر لدى المرضى لعدم توفر معلومات دقيقة كافية في دور العجزة.
- عدم القدرة على إجراء مقايسات متعددة للغلوكوز الصيامي لتشخيص الداء السكري لدى عينة الدراسة بسبب التكلفة المادية المرتفعة.

10- المراجع References:

2021 Alzheimer's disease facts and figures. (2021). *Alzheimer's & Dementia*, *17*(3), 327–406. https://doi.org/10.1002/alz.12328

Abondio, P., Sazzini, M., Garagnani, P., Boattini, A., Monti, D., Franceschi, C., Luiselli, D., & Giuliani, C. (2019). The Genetic Variability of APOE in Different Human Populations and Its Implications for Longevity. *Genes*, *10*(3), 222. https://doi.org/10.3390/genes10030222

Acar ÇiNleti, B., Yardimci, N., Aytürk, Z., İLhan, A., Kaya, G., Acar, M., Koç, E. R., Gündüz, E., & Gündüz, M. (2015). The effects and interactions of APOE and APH-1A polymorphisms in Alzheimer disease. *TURKISH JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES*, *45*, 1098–1105. https://doi.org/10.3906/sag-1407-19

Al-Jaf, S. M. A. (2021). Frequencies of Apolipoprotein E polymorphism in Iraqi Kurdish population. *Meta Gene*, *28*, 100867. https://doi.org/10.1016/j.mgene.2021.100867

Al-Khedhairy, A. A. A. (2004). Apolipoprotein E polymorphism as a predictor for cognitive decline and dementia in the Saudi general population over 65 years. *Genetics and Molecular Biology*, *27*(3), 331–334. https://doi.org/10.1590/S1415-47572004000300004

Altmann, A., Tian, L., Henderson, V. W., Greicius, M. D., & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative Investigators. (2014). Sex modifies the *APOE* -related risk of developing Alzheimer disease. *Annals of Neurology*, *75*(4), 563–573. https://doi.org/10.1002/ana.24135

American Psychiatric Association (Ed.). (2022). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5-TR™* (Fifth edition, text revision). American Psychiatric Association Publishing.

Arevalo-Rodriguez, I., Smailagic, N., Roqué I Figuls, M., Ciapponi, A., Sanchez-Perez, E., Giannakou, A., Pedraza, O. L., Bonfill Cosp, X., & Cullum, S. (2015). Mini-Mental State Examination (MMSE) for the detection of Alzheimer's disease and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database of Systematic Reviews*. https://doi.org/10.1002/14651858.CD010783.pub2

Baranzini, S. E. (2009). The genetics of autoimmune diseases: A networked perspective. *Current Opinion in Immunology*, *21*(6), 596–605. https://doi.org/10.1016/j.coi.2009.09.014

Belloy, M. E., Napolioni, V., & Greicius, M. D. (2019). A Quarter Century of APOE and Alzheimer's Disease: Progress to Date and the Path Forward. *Neuron*, *101*(5), 820–838. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.01.056

Bennet, A. M., Di Angelantonio, E., Ye, Z., Wensley, F., Dahlin, A., Ahlbom, A., Keavney, B., Collins, R., Wiman, B., De Faire, U., & Danesh, J. (2007). Association of Apolipoprotein E Genotypes With Lipid Levels and Coronary Risk. *JAMA*, *298*(11), 1300. https://doi.org/10.1001/jama.298.11.1300

Benyahya, F., Barakat, A., Ghailani, N., & Bennani, M. (2013). Polymorphisme de l'apolipoprotéine E dans la population du nord du Maroc: Fréquence et influence sur les paramètres lipidiques. *Pan African Medical Journal*, *15*. https://doi.org/10.11604/pamj.2013.15.157.2320

Bernath, M. M., Bhattacharyya, S., Nho, K., Barupal, D. K., Fiehn, O., Baillie, R., Risacher, S. L., Arnold, M., Jacobson, T., Trojanowski, J. Q., Shaw, L. M., Weiner, M. W., Doraiswamy, P. M., Kaddurah-Daouk, R., Saykin, A. J., & for the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative and Alzheimer's Disease Metabolomics Consortium. (2020). Serum triglycerides in Alzheimer disease: Relation to neuroimaging and CSF biomarkers. *Neurology*, *94*(20). https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000009436

Bétard, C., Robitaille, Y., Gee, M., Tiberghien, D., Larrivée, D., Roy, P., Mortimer, J. A., & Gauvreau, D. (1994). Apo E allele frequencies in Alzheimer's disease, Lewy body dementia, Alzheimer's

disease with cerebrovascular disease and vascular dementia: *NeuroReport*, *5*(15), 1893–1896. https://doi.org/10.1097/00001756-199410000-00013

Birks, J. S., & Harvey, R. J. (2018). Donepezil for dementia due to Alzheimer's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, *2018*(6). https://doi.org/10.1002/14651858.CD001190.pub3

BlÃ¡zquez, E., VelÃ¡zquez, E., Hurtado-Carneiro, V., & Ruiz-Albusac, J. M. (2014). Insulin in the Brain: Its Pathophysiological Implications for States Related with Central Insulin Resistance, Type 2 Diabetes and Alzheimerâ€™s Disease. *Frontiers in Endocrinology*, *5*. https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00161

Blennow, K., & Zetterberg, H. (2018). Biomarkers for Alzheimer's disease: Current status and prospects for the future. *Journal of Internal Medicine*, *284*(6), 643–663. https://doi.org/10.1111/joim.12816

Burns, C. M., Kaszniak, A. W., Chen, K., Lee, W., Bandy, D. J., Caselli, R. J., & Reiman, E. M. (2018). Longitudinal Changes in Serum Glucose Levels are Associated with Metabolic Changes in Alzheimer's Disease Related Brain Regions. *Journal of Alzheimer's Disease*, *62*(2), 833–840. https://doi.org/10.3233/JAD-170767

Button, E. B., Robert, J., Caffrey, T. M., Fan, J., Zhao, W., & Wellington, C. L. (2019). HDL from an Alzheimer's disease perspective. *Current Opinion in Lipidology*, *30*(3), 224–234. https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000604

Cardon, L. R., & Bell, J. I. (2001). Association study designs for complex diseases. *Nature Reviews Genetics*, *2*(2), 91–99. https://doi.org/10.1038/35052543

Cariolou, M. A., Kokkofitou, A., Manoli, P., Christou, S., Karagrigoriou, A., & Middleton, L. (1995). Underexpression of the apolipoprotein E2 and E4 alleles in the Greek Cypriot population of Cyprus. *Genetic Epidemiology*, *12*(5), 489–497. https://doi.org/10.1002/gepi.1370120506

Carleton, R. A., Dwyer, J., Finberg, L., Flora, J., Goodman, D. S., Grundy, S. M., Havas, S., Hunter, G. T., Kritchevsky, D., & Lauer, R. M. (1991). Report of the Expert Panel on Population Strategies for Blood Cholesterol Reduction. A statement from the National Cholesterol Education Program, National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institutes of Health. *Circulation*, *83*(6), 2154–2232. https://doi.org/10.1161/01.CIR.83.6.2154

Chapleau, M., Iaccarino, L., Soleimani-Meigooni, D., & Rabinovici, G. D. (2022). The Role of Amyloid PET in Imaging Neurodegenerative Disorders: A Review. *Journal of Nuclear Medicine*, *63*(Supplement 1), 13S-19S. https://doi.org/10.2967/jnumed.121.263195

Chapman, J., Vinokurov, S., Achiron, A., Karussis, D. M., Mitosek–Szewczyk, K., Birnbaum, M., Michaelson, D. M., & Korczyn, A. D. (2001). *APOE* genotype is a major predictor of long-term progression of disability in MS. *Neurology*, *56*(3), 312–316. https://doi.org/10.1212/WNL.56.3.312

Chartier-Hariln, M.-C., Parfitt, M., Legrain, S., Pérez-Tur, J., Brousseau, T., Evans, A., Berr, C., Vldal, O., Roques, P., Gourlet, V., Fruchart, J.-C., Delacourte, A., Rossor, M., & Amouyel, P. (1994). Apolipoprotein E, ε4 allele as a major risk factor for sporadic early and late-onset forms of Alzheimer's disease: Analysis of the 19q13.2 chromosomal region. *Human Molecular Genetics*, *3*(4), 569–574. https://doi.org/10.1093/hmg/3.4.569

Corbo, R. M., & Scacchi, R. (1999). Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world. Is *APOE* * *4* a 'thrifty' allele? *Annals of Human Genetics*, *63*(4), 301–310. https://doi.org/10.1046/j.1469-1809.1999.6340301.x

Corder, E. H., Saunders, A. M., Risch, N. J., Strittmatter, W. J., Schmechel, D. E., Gaskell, P. C., Rimmler, J. B., Locke, P. A., Conneally, P. M., Schmader, K. E., Small, G. W., Roses, A. D., Haines, J. L., & Pericak-Vance, M. A. (1994). Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele

for late onset Alzheimer disease. *Nature Genetics*, *7*(2), 180–184. https://doi.org/10.1038/ng0694-180

Corder, E. H., Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Schmechel, D. E., Gaskell, P. C., Small, G. W., Roses, A. D., Haines, J. L., & Pericak-Vance, M. A. (1993). Gene Dose of Apolipoprotein E Type 4 Allele and the Risk of Alzheimer's Disease in Late Onset Families. *Science*, *261*(5123), 921–923. https://doi.org/10.1126/science.8346443

Desikan, R. S., Fan, C. C., Wang, Y., Schork, A. J., Cabral, H. J., Cupples, L. A., Thompson, W. K., Besser, L., Kukull, W. A., Holland, D., Chen, C.-H., Brewer, J. B., Karow, D. S., Kauppi, K., Witoelar, A., Karch, C. M., Bonham, L. W., Yokoyama, J. S., Rosen, H. J., … Dale, A. M. (2017). Genetic assessment of age-associated Alzheimer disease risk: Development and validation of a polygenic hazard score. *PLOS Medicine*, *14*(3), e1002258. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002258

Desikan, R. S., Rafii, M. S., Brewer, J. B., & Hess, C. P. (2013). An Expanded Role for Neuroimaging in the Evaluation of Memory Impairment. *American Journal of Neuroradiology*, *34*(11), 2075–2082. https://doi.org/10.3174/ajnr.A3644

Desoky, T., Hassan, M. H., Elbeh, K. A., Abbas, M. A., El-Sawy, S. A., Sakr, S. F., Bekiet, M. A., Mohamed, R. B., & Hefny, M. M. (2024). Genetic polymorphisms of ACE2 G8790A (rs2285666) and Apo E (rs 121918398) in Alzheimer's disease among cohort of Egyptian patients: Relation to disease susceptibility and severity. *SVU-International Journal of Medical Sciences*, *7*(2), 325–339. https://doi.org/10.21608/svuijm.2024.307257.1942

Dujardin, S., Commins, C., Lathuiliere, A., Beerepoot, P., Fernandes, A. R., Kamath, T. V., De Los Santos, M. B., Klickstein, N., Corjuc, D. L., Corjuc, B. T., Dooley, P. M., Viode, A., Oakley, D. H., Moore, B. D., Mullin, K., Jean-Gilles, D., Clark, R., Atchison, K., Moore, R., … Hyman, B. T. (2020). Tau molecular diversity contributes to clinical heterogeneity in Alzheimer's disease. *Nature Medicine*, *26*(8), 1256–1263. https://doi.org/10.1038/s41591-020-0938-9

Dunn, B., Stein, P., & Cavazzoni, P. (2021). Approval of Aducanumab for Alzheimer Disease—The FDA's Perspective. *JAMA Internal Medicine*, *181*(10), 1276. https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2021.4607

Eisenberg, D. T. A., Kuzawa, C. W., & Hayes, M. G. (2010). Worldwide allele frequencies of the human apolipoprotein E gene: Climate, local adaptations, and evolutionary history. *American Journal of Physical Anthropology*, *143*(1), 100–111. https://doi.org/10.1002/ajpa.21298

Elosua, R., Demissie, S., Cupples, L. A., Meigs, J. B., Wilson, P. W. F., Schaefer, E. J., Corella, D., & Ordovas, J. M. (2003). Obesity Modulates the Association among *APOE* Genotype, Insulin, and Glucose in Men. *Obesity Research*, *11*(12), 1502–1508. https://doi.org/10.1038/oby.2003.201

ElSayed, N. A., Aleppo, G., Aroda, V. R., Bannuru, R. R., Brown, F. M., Bruemmer, D., Collins, B. S., Cusi, K., Das, S. R., Gibbons, C. H., Giurini, J. M., Hilliard, M. E., Isaacs, D., Johnson, E. L., Kahan, S., Khunti, K., Kosiborod, M., Leon, J., Lyons, S. K., … Gabbay, R. A. (2023). Introduction and Methodology: *Standards of Care in Diabetes—2023*. *Diabetes Care*, *46*(Supplement_1), S1–S4. https://doi.org/10.2337/dc23-Sint

Epstein, F. H., Johnson, K. H., O'Brien, T. D., Betsholtz, C., & Westermark, P. (1989). Islet Amyloid, Islet-Amyloid Polypeptide, and Diabetes Mellitus. *New England Journal of Medicine*, *321*(8), 513–518. https://doi.org/10.1056/NEJM198908243210806

Farrer, L. A., Cupples, L. A., Haines, J. L., Hyman, B., Kukull, W. A., Mayeux, R., Myers, R. H., Pericak-Vance, M. A., Risch, N., & van Duijn, C. M. (1997). Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA*, *278*(16), 1349–1356.

Fitz, N. F., Nam, K. N., Wolfe, C. M., Letronne, F., Playso, B. E., Iordanova, B. E., Kozai, T. D. Y., Biedrzycki, R. J., Kagan, V. E., Tyurina, Y. Y., Han, X., Lefterov, I., & Koldamova, R. (2021). Phospholipids of APOE lipoproteins activate microglia in an isoform-specific manner in preclinical models of Alzheimer's disease. *Nature Communications*, *12*(1), 3416. https://doi.org/10.1038/s41467-021-23762-0

Foley, K. E., & Wilcock, D. M. (2024). Three major effects of APOEε4 on Aβ immunotherapy induced ARIA. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *16*, 1412006. https://doi.org/10.3389/fnagi.2024.1412006

for the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, Sampedro, F., Vilaplana, E., De Leon, M. J., Alcolea, D., Pegueroles, J., Montal, V., Carmona-Iragui, M., Sala, I., Sánchez-Saudinos, M.-B., Antón-Aguirre, S., Morenas-Rodríguez, E., Camacho, V., Falcón, C., Pavía, J., Ros, D., Clarimón, J., Blesa, R., Lleó, A., & Fortea, J. (2015). *APOE* -by-sex interactions on brain structure and metabolism in healthy elderly controls. *Oncotarget*, *6*(29), 26663–26674. https://doi.org/10.18632/oncotarget.5185

Fray, S., Achouri-Rassas, A., Belal, S., & Messaoud, T. (2022). Missing apolipoprotein E ε4 allele associated with nonamnestic Alzheimer's disease in a Tunisian population. *Journal of Genetics*, *101*, 41.

Garai, K., Verghese, P. B., Baban, B., Holtzman, D. M., & Frieden, C. (2014). The Binding of Apolipoprotein E to Oligomers and Fibrils of Amyloid-β Alters the Kinetics of Amyloid Aggregation. *Biochemistry*, *53*(40), 6323–6331. https://doi.org/10.1021/bi5008172

Ghayeghran, A. R., Akbarshahi, M., Salehi, Z., & Davoudi-Kiakalayeh, A. (2017). Analysis of apolipoprotein E genetic variation in patients with Alzheimer disease referred to Imam Reza Clinic, Rasht, Iran, in 2015. *Iranian Journal of Neurology*, *16*(4), 173–177.

Goldberg, T. E., Huey, E. D., & Devanand, D. P. (2020). Association of APOE e2 genotype with Alzheimer's and non-Alzheimer's neurodegenerative pathologies. *Nature Communications*, *11*(1), 4727. https://doi.org/10.1038/s41467-020-18198-x

Gureje, O., Ogunniyi, A., Baiyewu, O., Price, B., Unverzagt, F. W., Evans, R. M., Smith-Gamble, V., Lane, K. A., Gao, S., Hall, K. S., Hendrie, H. C., & Murrell, J. R. (2006). *APOE* ε4 is not associated with Alzheimer's disease in elderly Nigerians. *Annals of Neurology*, *59*(1), 182–185. https://doi.org/10.1002/ana.20694

Hiller, A. J., & Ishii, M. (2018). Disorders of Body Weight, Sleep and Circadian Rhythm as Manifestations of Hypothalamic Dysfunction in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *12*, 471. https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00471

Hörder, H., Johansson, L., Guo, X., Grimby, G., Kern, S., Östling, S., & Skoog, I. (2018). Midlife cardiovascular fitness and dementia: A 44-year longitudinal population study in women. *Neurology*, *90*(15). https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005290

Hou, T., Han, Y.-D., Cong, L., Liu, C., Liang, X.-Y., Xue, F., & Du, Y. (2020). Apolipoprotein E Facilitates Amyloid-β Oligomer-Induced Tau Phosphorylation. *Journal of Alzheimer's Disease*, *74*(2), 521–534. https://doi.org/10.3233/JAD-190711

Huang, C., Rust, N. C., Wu, H., Yin, A., Zeltner, N., Yin, H., & Hart, G. W. (2023). Low glucose induced Alzheimer's disease-like biochemical changes in human induced pluripotent stem cell-derived neurons is due to dysregulated O-GlcNAcylation. *Alzheimer's & Dementia*, *19*(11), 4872–4885. https://doi.org/10.1002/alz.13058

Husain, M. A., Laurent, B., & Plourde, M. (2021). APOE and Alzheimer's Disease: From Lipid Transport to Physiopathology and Therapeutics. *Frontiers in Neuroscience*, *15*, 630502. https://doi.org/10.3389/fnins.2021.630502

Iniesta, R., Guinó, E., & Moreno, V. (2005). Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gaceta Sanitaria*, *19*(4), 333–341. https://doi.org/10.1157/13078029

Insel, P. S., Hansson, O., & Mattsson-Carlgren, N. (2021). Association Between Apolipoprotein E ε2 vs ε4, Age, and β-Amyloid in Adults Without Cognitive Impairment. *JAMA Neurology*, *78*(2), 229. https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.3780

Isbir, T., Agaçhan, B., Yilmaz, H., Aydin, M., Kara, I., Eker, E., & Eker, D. (2001). Apolopoprotein-E gene polymorphism and lipid profiles in Alzheimer's disease. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias®*, *16*(2), 77–81. https://doi.org/10.1177/153331750101600207

Jack, C. R., Andrews, J. S., Beach, T. G., Buracchio, T., Dunn, B., Graf, A., Hansson, O., Ho, C., Jagust, W., McDade, E., Molinuevo, J. L., Okonkwo, O. C., Pani, L., Rafii, M. S., Scheltens, P., Siemers, E., Snyder, H. M., Sperling, R., Teunissen, C. E., & Carrillo, M. C. (2024). Revised criteria for diagnosis and staging of Alzheimer's disease: Alzheimer's Association Workgroup. *Alzheimer's & Dementia*, *20*(8), 5143–5169. https://doi.org/10.1002/alz.13859

Jun, G. R., You, Y., Zhu, C., Meng, G., Chung, J., Panitch, R., Hu, J., Xia, W., The Alzheimer's Disease Genetics Consortium, Bennett, D. A., Foroud, T. M., Wang, L., Haines, J. L., Mayeux, R., Pericak-Vance, M. A., Schellenberg, G. D., Au, R., Lunetta, K. L., Ikezu, T., … Farrer, L. A. (2022). Protein phosphatase 2A and complement component 4 are linked to the protective effect of *APOE* ε2 for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, *18*(11), 2042–2054. https://doi.org/10.1002/alz.12607

Karch, C. M., & Goate, A. M. (2015). Alzheimer's Disease Risk Genes and Mechanisms of Disease Pathogenesis. *Biological Psychiatry*, *77*(1), 43–51. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.05.006

Khera, A. (2019). The New 2018 Cholesterol Guidelines: Filling Gaps and Expanding Opportunities. *Circulation*, *139*(25), 2805–2808. https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.038629

Kim, J., Basak, J. M., & Holtzman, D. M. (2009). The Role of Apolipoprotein E in Alzheimer's Disease. *Neuron*, *63*(3), 287–303. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.06.026

Kloske, C. M., & Wilcock, D. M. (2020). The Important Interface Between Apolipoprotein E and Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Immunology*, *11*, 754. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00754

Knopman, D. S., DeKosky, S. T., Cummings, J. L., Chui, H., Corey–Bloom, J., Relkin, N., Small, G. W., Miller, B., & Stevens, J. C. (2001). Practice parameter: Diagnosis of dementia (an evidence-based review): Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, *56*(9), 1143–1153. https://doi.org/10.1212/WNL.56.9.1143

Kockx, M., Traini, M., & Kritharides, L. (2018). Cell-specific production, secretion, and function of apolipoprotein E. *Journal of Molecular Medicine*, *96*(5), 361–371. https://doi.org/10.1007/s00109-018-1632-y

Kok, E., Haikonen, S., Luoto, T., Huhtala, H., Goebeler, S., Haapasalo, H., & Karhunen, P. J. (2009). Apolipoprotein E–dependent accumulation of Alzheimer disease–related lesions begins in middle age. *Annals of Neurology*, *65*(6), 650–657. https://doi.org/10.1002/ana.21696

Koriath, C., Lashley, T., Taylor, W., Druyeh, R., Dimitriadis, A., Denning, N., Williams, J., Warren, J. D., Fox, N. C., Schott, J. M., Rowe, J. B., Collinge, J., Rohrer, J. D., & Mead, S. (2019). ApoE4 lowers age at onset in patients with frontotemporal dementia and tauopathy independent of amyloid-β copathology. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*, *11*(1), 277–280. https://doi.org/10.1016/j.dadm.2019.01.010

Leng, K., Li, E., Eser, R., Piergies, A., Sit, R., Tan, M., Neff, N., Li, S. H., Rodriguez, R. D., Suemoto, C. K., Leite, R. E. P., Ehrenberg, A. J., Pasqualucci, C. A., Seeley, W. W., Spina, S., Heinsen, H., Grinberg, L. T., & Kampmann, M. (2021). Molecular characterization of selectively vulnerable

neurons in Alzheimer's disease. *Nature Neuroscience*, *24*(2), 276–287. https://doi.org/10.1038/s41593-020-00764-7

Lichtenthaler, S. F., & Haass, C. (2004). Amyloid at the cutting edge: Activation of α-secretase prevents amyloidogenesis in an Alzheimer disease mouse model. *Journal of Clinical Investigation*, *113*(10), 1384–1387. https://doi.org/10.1172/JCI21746

Liu, C.-C., Kanekiyo, T., Xu, H., & Bu, G. (2013). Apolipoprotein E and Alzheimer disease: Risk, mechanisms and therapy. *Nature Reviews Neurology*, *9*(2), 106–118. https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.263

Lombardi, G., Crescioli, G., Cavedo, E., Lucenteforte, E., Casazza, G., Bellatorre, A.-G., Lista, C., Costantino, G., Frisoni, G., Virgili, G., & Filippini, G. (2020). Structural magnetic resonance imaging for the early diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease in people with mild cognitive impairment. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. https://doi.org/10.1002/14651858.CD009628.pub2

Luckett, E. S., Schaeverbeke, J., De Meyer, S., Adamczuk, K., Van Laere, K., Dupont, P., & Vandenberghe, R. (2023). Longitudinal changes in 18F-Flutemetamol amyloid load in cognitively intact APOE4 carriers versus noncarriers: Methodological considerations. *NeuroImage: Clinical*, *37*, 103321. https://doi.org/10.1016/j.nicl.2023.103321

Masuda, T., Shimazawa, M., Hashimoto, Y., Kojima, A., Nakamura, S., Suemori, S., Mochizuki, K., Kawakami, H., Kawase, K., & Hara, H. (2017). Apolipoprotein E2 and E3, but Not E4, Promote Retinal Pathologic Neovascularization. *Investigative Opthalmology & Visual Science*, *58*(2), 1208. https://doi.org/10.1167/iovs.16-20539

Mateo-Gallego, R., Pérez-Calahorra, S., Bea, A. M., Gracia-Rubio, I., Rodrigo-Carbo, C., Moreno-Franco, B., Civeira, F., Laclaustra, M., & Lamiquiz-Moneo, I. (2023). Absence of the influence of the APOE gene on the incidence of type 2 diabetes mellitus in a cohort of workers: Effect of diet and shift work. *Clínica e Investigación En Arteriosclerosis*, *35*(5), 226–235. https://doi.org/10.1016/j.arteri.2023.04.003

McCarron, M. O., Delong, D., & Alberts, M. J. (1999). *APOE* genotype as a risk factor for ischemic cerebrovascular disease: A meta-analysis. *Neurology*, *53*(6), 1308–1308. https://doi.org/10.1212/WNL.53.6.1308

Michikawa, M., Fan, Q., Isobe, I., & Yanagisawa, K. (2000). Apolipoprotein E Exhibits Isoform-Specific Promotion of Lipid Efflux from Astrocytes and Neurons in Culture. *Journal of Neurochemistry*, *74*(3), 1008–1016. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.0741008.x

Montagne, A., Nation, D. A., Sagare, A. P., Barisano, G., Sweeney, M. D., Chakhoyan, A., Pachicano, M., Joe, E., Nelson, A. R., D'Orazio, L. M., Buennagel, D. P., Harrington, M. G., Benzinger, T. L. S., Fagan, A. M., Ringman, J. M., Schneider, L. S., Morris, J. C., Reiman, E. M., Caselli, R. J., … Zlokovic, B. V. (2020). APOE4 leads to blood–brain barrier dysfunction predicting cognitive decline. *Nature*, *581*(7806), 71–76. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2247-3

Moran, C., Lacy, M. E., Whitmer, R. A., Tsai, A.-L., Quesenberry, C. P., Karter, A. J., Adams, A. S., & Gilsanz, P. (2023). Glycemic Control Over Multiple Decades and Dementia Risk in People With Type 2 Diabetes. *JAMA Neurology*, *80*(6), 597. https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2023.0697

Nadeem, S., Maqbool, T., Qureshi, J. A., Altaf, A., Naz, S., Azhar, M. M., Ullah, I., Shah, T. A., Qamar, M. U., & Salamatullah, A. M. (2024). Apolipoprotein E Gene Variation in Pakistani Subjects with Type 2 Diabetes with and without Cardiovascular Complications. *Medicina*, *60*(6), 961. https://doi.org/10.3390/medicina60060961

Nägga, K., Gustavsson, A.-M., Stomrud, E., Lindqvist, D., Van Westen, D., Blennow, K., Zetterberg, H., Melander, O., & Hansson, O. (2018). Increased midlife triglycerides predict brain β-amyloid

and tau pathology 20 years later. *Neurology*, *90*(1). https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004749

Namba, Y., Tomonaga, M., Kawasaki, H., Otomo, E., & Ikeda, K. (1991). Apolipoprotein E immunoreactivity in cerebral amyloid deposits and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and kuru plaque amyloid in Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Research*, *541*(1), 163–166. https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)91092-F

Nelson, P. T., Pious, N. M., Jicha, G. A., Wilcock, D. M., Fardo, D. W., Estus, S., & Rebeck, G. W. (2013). APOE-ε2 and APOE-ε4 Correlate With Increased Amyloid Accumulation in Cerebral Vasculature. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *72*(7), 708–715. https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e31829a25b9

Nichols, E., Steinmetz, J. D., Vollset, S. E., Fukutaki, K., Chalek, J., Abd-Allah, F., Abdoli, A., Abualhasan, A., Abu-Gharbieh, E., Akram, T. T., Al Hamad, H., Alahdab, F., Alanezi, F. M., Alipour, V., Almustanyir, S., Amu, H., Ansari, I., Arabloo, J., Ashraf, T., … Vos, T. (2022). Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: An analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Public Health*, *7*(2), e105–e125. https://doi.org/10.1016/S2468-2667(21)00249-8

Nickerson, D. A., Taylor, S. L., Fullerton, S. M., Weiss, K. M., Clark, A. G., Stengård, J. H., Salomaa, V., Boerwinkle, E., & Sing, C. F. (2000). Sequence Diversity and Large-Scale Typing of SNPs in the Human Apolipoprotein E Gene. *Genome Research*, *10*(10), 1532–1545. https://doi.org/10.1101/gr.146900

Norwitz, N. G., Saif, N., Ariza, I. E., & Isaacson, R. S. (2021). Precision Nutrition for Alzheimer's Prevention in ApoE4 Carriers. *Nutrients*, *13*(4), 1362. https://doi.org/10.3390/nu13041362

Osuntokun, B. O., Sahota, A., Ogunniyi, A. O., Gureje, O., Baiyewu, O., Adeyinka, A., Oluwole, S. O., Komolafe, O., Hall, K. S., Unverzagt, F. W., Hui, S. L., Yang, M., & Hendrie, H. C. (1995). Lack of an association between apolipoprotein E ϵ4 and Alzheimer's disease in elderly nigerians. *Annals of Neurology*, *38*(3), 463–465. https://doi.org/10.1002/ana.410380319

Pablos-Méndez, A., Mayeux, R., Ngai, C., Shea, S., & Berglund, L. (1997). Association of Apo E Polymorphism With Plasma Lipid Levels in a Multiethnic Elderly Population. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *17*(12), 3534–3541. https://doi.org/10.1161/01.ATV.17.12.3534

Papastefanopoulou, V., Stanitsa, E., Koros, C., Simoudis, A., Florou-Hatziyiannidou, C., Beratis, I., Antonelou, R., Andronas, N., Voskou, P., Angelopoulou, E., Papatriantafyllou, J. D., Stefanis, L., Kroupis, C., & Papageorgiou, S. G. (2022). APOE Allele Frequency in Southern Greece: Exploring the Role of Geographical Gradient in the Greek Population. *Geriatrics*, *8*(1), 1. https://doi.org/10.3390/geriatrics8010001

Phillips, M. C. (2014). Apolipoprotein E isoforms and lipoprotein metabolism. *IUBMB Life*, *66*(9), 616–623. https://doi.org/10.1002/iub.1314

Plassman, B. L., Langa, K. M., Fisher, G. G., Heeringa, S. G., Weir, D. R., Ofstedal, M. B., Burke, J. R., Hurd, M. D., Potter, G. G., Rodgers, W. L., Steffens, D. C., Willis, R. J., & Wallace, R. B. (2007). Prevalence of Dementia in the United States: The Aging, Demographics, and Memory Study. *Neuroepidemiology*, *29*(1–2), 125–132. https://doi.org/10.1159/000109998

Qassem, T., Itani, L., Nasr, W., Al-Ayyat, D., Javaid, S. F., & Al-Sinawi, H. (2023). Prevalence and economic burden of dementia in the Arab world. *BJPsych Open*, *9*(4), e126. https://doi.org/10.1192/bjo.2023.517

Qiang, W., Yau, W.-M., Lu, J.-X., Collinge, J., & Tycko, R. (2017). Structural variation in amyloid-β fibrils from Alzheimer's disease clinical subtypes. *Nature*, *541*(7636), 217–221. https://doi.org/10.1038/nature20814

Reiss, A. B., Muhieddine, D., Jacob, B., Mesbah, M., Pinkhasov, A., Gomolin, I. H., Stecker, M. M., Wisniewski, T., & De Leon, J. (2023). Alzheimer's Disease Treatment: The Search for a Breakthrough. *Medicina*, *59*(6), 1084. https://doi.org/10.3390/medicina59061084

Reitz, C., Tang, M.-X., Luchsinger, J., & Mayeux, R. (2004). Relation of Plasma Lipids to Alzheimer Disease and Vascular Dementia. *Archives of Neurology*, *61*(5), 705. https://doi.org/10.1001/archneur.61.5.705

Reitz, C., Tang, M.-X., Schupf, N., Manly, J. J., Mayeux, R., & Luchsinger, J. A. (2010). Association of Higher Levels of High-Density Lipoprotein Cholesterol in Elderly Individuals and Lower Risk of Late-Onset Alzheimer Disease. *Archives of Neurology*, *67*(12). https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.297

Sáiz-Vazquez, O., Puente-Martínez, A., Ubillos-Landa, S., Pacheco-Bonrostro, J., & Santabárbara, J. (2020). Cholesterol and Alzheimer's Disease Risk: A Meta-Meta-Analysis. *Brain Sciences*, *10*(6), 386. https://doi.org/10.3390/brainsci10060386

Sallam, T., Ito, A., Rong, X., Kim, J., Van Stijn, C., Chamberlain, B. T., Jung, M. E., Chao, L. C., Jones, M., Gilliland, T., Wu, X., Su, G. L., Tangirala, R. K., Tontonoz, P., & Hong, C. (2014). The macrophage LBP gene is an LXR target that promotes macrophage survival and atherosclerosis. *Journal of Lipid Research*, *55*(6), 1120–1130. https://doi.org/10.1194/jlr.M047548

Salloway, S., Chalkias, S., Barkhof, F., Burkett, P., Barakos, J., Purcell, D., Suhy, J., Forrestal, F., Tian, Y., Umans, K., Wang, G., Singhal, P., Budd Haeberlein, S., & Smirnakis, K. (2022). Amyloid-Related Imaging Abnormalities in 2 Phase 3 Studies Evaluating Aducanumab in Patients With Early Alzheimer Disease. *JAMA Neurology*, *79*(1), 13. https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2021.4161

Satizabal, C. L., Beiser, A. S., Chouraki, V., Chêne, G., Dufouil, C., & Seshadri, S. (2016). Incidence of Dementia over Three Decades in the Framingham Heart Study. *New England Journal of Medicine*, *374*(6), 523–532. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1504327

Sepehrnia, B., Kamboh, M. I., Adams-Campbell, L. L., Bunker, C. H., Nwankwo, M., Majumder, P. P., & Ferrell, R. E. (1989). Genetic studies of human apolipoproteins. X. The effect of the apolipoprotein E polymorphism on quantitative levels of lipoproteins in Nigerian blacks. *American Journal of Human Genetics*, *45*(4), 586–591.

Serrano-Pozo, A., Qian, J., Monsell, S. E., Betensky, R. A., & Hyman, B. T. (2015). *APOE* ε2 is associated with milder clinical and pathological A lzheimer disease. *Annals of Neurology*, *77*(6), 917–929. https://doi.org/10.1002/ana.24369

Sevigny, J., Chiao, P., Bussière, T., Weinreb, P. H., Williams, L., Maier, M., Dunstan, R., Salloway, S., Chen, T., Ling, Y., O'Gorman, J., Qian, F., Arastu, M., Li, M., Chollate, S., Brennan, M. S., Quintero-Monzon, O., Scannevin, R. H., Arnold, H. M., … Sandrock, A. (2016). The antibody aducanumab reduces Aβ plaques in Alzheimer's disease. *Nature*, *537*(7618), 50–56. https://doi.org/10.1038/nature19323

Shafagoj, Y. A., Naffa, R. G., El-Khateeb, M. S., Abdulla, Y. L., Al-qaddoumi, A. A., Khatib, F. A., AL-Motassem, Y. F., & Al-Khateeb, E. M. (2018). APOE Gene polymorphism among Jordanian Alzheimer's patients with relation to lipid profile. *Neurosciences*, *23*(1), 29–34. https://doi.org/10.17712/nsj.2018.1.20170169

Shamieh, S. E., Costanian, C., Kassir, R., Visvkis-Siest, S., & Bissar-Tadmouri, N. (2019). *APOE* Genotypes in Lebanon: Distribution and Association with Hypercholesterolemia and Alzheimer's Disease. *Personalized Medicine*, *16*(1), 15–23. https://doi.org/10.2217/pme-2018-0067

Sirota, M., Schaub, M. A., Batzoglou, S., Robinson, W. H., & Butte, A. J. (2009). Autoimmune Disease Classification by Inverse Association with SNP Alleles. *PLoS Genetics*, *5*(12), e1000792. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000792

Song, W. M., & Colonna, M. (2018). The identity and function of microglia in neurodegeneration. *Nature Immunology*, *19*(10), 1048–1058. https://doi.org/10.1038/s41590-018-0212-1

Strittmatter, W. J., Saunders, A. M., Schmechel, D., Pericak-Vance, M., Enghild, J., Salvesen, G. S., & Roses, A. D. (1993). Apolipoprotein E: High-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *90*(5), 1977–1981. https://doi.org/10.1073/pnas.90.5.1977

Sukhumsirichart, W. (2018). Polymorphisms. In Y. Liu (Ed.), *Genetic Diversity and Disease Susceptibility*. InTech. https://doi.org/10.5772/intechopen.76728

Takei, N., Miyashita, A., Tsukie, T., Arai, H., Asada, T., Imagawa, M., Shoji, M., Higuchi, S., Urakami, K., Kimura, H., Kakita, A., Takahashi, H., Tsuji, S., Kanazawa, I., Ihara, Y., Odani, S., & Kuwano, R. (2009). Genetic association study on in and around the APOE in late-onset Alzheimer disease in Japanese. *Genomics*, *93*(5), 441–448. https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2009.01.003

Tao, Q., Ang, T. F. A., DeCarli, C., Auerbach, S. H., Devine, S., Stein, T. D., Zhang, X., Massaro, J., Au, R., & Qiu, W. Q. (2018). Association of Chronic Low-grade Inflammation With Risk of Alzheimer Disease in *ApoE4* Carriers. *JAMA Network Open*, *1*(6), e183597. https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.3597

Tarasoff-Conway, J. M., Carare, R. O., Osorio, R. S., Glodzik, L., Butler, T., Fieremans, E., Axel, L., Rusinek, H., Nicholson, C., Zlokovic, B. V., Frangione, B., Blennow, K., Ménard, J., Zetterberg, H., Wisniewski, T., & De Leon, M. J. (2015). Clearance systems in the brain—Implications for Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*, *11*(8), 457–470. https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.119

Therriault, J., Benedet, A. L., Pascoal, T. A., Mathotaarachchi, S., Chamoun, M., Savard, M., Thomas, E., Kang, M. S., Lussier, F., Tissot, C., Parsons, M., Qureshi, M. N. I., Vitali, P., Massarweh, G., Soucy, J.-P., Rej, S., Saha-Chaudhuri, P., Gauthier, S., & Rosa-Neto, P. (2020). Association of Apolipoprotein E ε4 With Medial Temporal Tau Independent of Amyloid-β. *JAMA Neurology*, *77*(4), 470. https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.4421

Todd, S., Barr, S., Roberts, M., & Passmore, A. P. (2013). Survival in dementia and predictors of mortality: A review. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, *28*(11), 1109–1124. https://doi.org/10.1002/gps.3946

Van Acker, Z. P., Bretou, M., & Annaert, W. (2019). Endo-lysosomal dysregulations and late-onset Alzheimer's disease: Impact of genetic risk factors. *Molecular Neurodegeneration*, *14*(1), 20. https://doi.org/10.1186/s13024-019-0323-7

Van Dyck, C. H., Swanson, C. J., Aisen, P., Bateman, R. J., Chen, C., Gee, M., Kanekiyo, M., Li, D., Reyderman, L., Cohen, S., Froelich, L., Katayama, S., Sabbagh, M., Vellas, B., Watson, D., Dhadda, S., Irizarry, M., Kramer, L. D., & Iwatsubo, T. (2023). Lecanemab in Early Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, *388*(1), 9–21. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2212948

Verghese, P. B., Castellano, J. M., Garai, K., Wang, Y., Jiang, H., Shah, A., Bu, G., Frieden, C., & Holtzman, D. M. (2013). ApoE influences amyloid-β (Aβ) clearance despite minimal apoE/Aβ association in physiological conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(19). https://doi.org/10.1073/pnas.1220484110

Vignal, A., Milan, D., SanCristobal, M., & Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*, *34*(3), 275. https://doi.org/10.1186/1297-9686-34-3-275

Villain, N., Planche, V., & Levy, R. (2022). High-clearance anti-amyloid immunotherapies in Alzheimer's disease. Part 1: Meta-analysis and review of efficacy and safety data, and medico-economical aspects. *Revue Neurologique*, *178*(10), 1011–1030. https://doi.org/10.1016/j.neurol.2022.06.012

Wang, H., Kulas, J. A., Wang, C., Holtzman, D. M., Ferris, H. A., & Hansen, S. B. (2021). Regulation of beta-amyloid production in neurons by astrocyte-derived cholesterol. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *118*(33), e2102191118. https://doi.org/10.1073/pnas.2102191118

Wang, X., Huang, W., Su, L., Xing, Y., Jessen, F., Sun, Y., Shu, N., & Han, Y. (2020). Neuroimaging advances regarding subjective cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, *15*(1), 55. https://doi.org/10.1186/s13024-020-00395-3

Wu, Y., Wang, Z., Jia, X., Zhang, H., Zhang, H., Li, J., & Zhang, K. (2019). Prediction of Alzheimer's disease with serum lipid levels in Asian individuals: A meta-analysis. *Biomarkers*, *24*(4), 341–351. https://doi.org/10.1080/1354750X.2019.1571633

Xiong, M., Jiang, H., Serrano, J. R., Gonzales, E. R., Wang, C., Gratuze, M., Hoyle, R., Bien-Ly, N., Silverman, A. P., Sullivan, P. M., Watts, R. J., Ulrich, J. D., Zipfel, G. J., & Holtzman, D. M. (2021). APOE immunotherapy reduces cerebral amyloid angiopathy and amyloid plaques while improving cerebrovascular function. *Science Translational Medicine*, *13*(581), eabd7522. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abd7522

Xu, W., Tan, L., Wang, H.-F., Jiang, T., Tan, M.-S., Tan, L., Zhao, Q.-F., Li, J.-Q., Wang, J., & Yu, J.-T. (2015). Meta-analysis of modifiable risk factors for Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, jnnp-2015-310548. https://doi.org/10.1136/jnnp-2015-310548

Yu, J.-T., Xu, W., Tan, C.-C., Andrieu, S., Suckling, J., Evangelou, E., Pan, A., Zhang, C., Jia, J., Feng, L., Kua, E.-H., Wang, Y.-J., Wang, H.-F., Tan, M.-S., Li, J.-Q., Hou, X.-H., Wan, Y., Tan, L., Mok, V., … Vellas, B. (2020). Evidence-based prevention of Alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis of 243 observational prospective studies and 153 randomised controlled trials. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *91*(11), 1201–1209. https://doi.org/10.1136/jnnp-2019-321913

Zhang, X., Tong, T., Chang, A., Ang, T. F. A., Tao, Q., Auerbach, S., Devine, S., Qiu, W. Q., Mez, J., Massaro, J., Lunetta, K. L., Au, R., & Farrer, L. A. (2023). Midlife lipid and glucose levels are associated with Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, *19*(1), 181–193. https://doi.org/10.1002/alz.12641

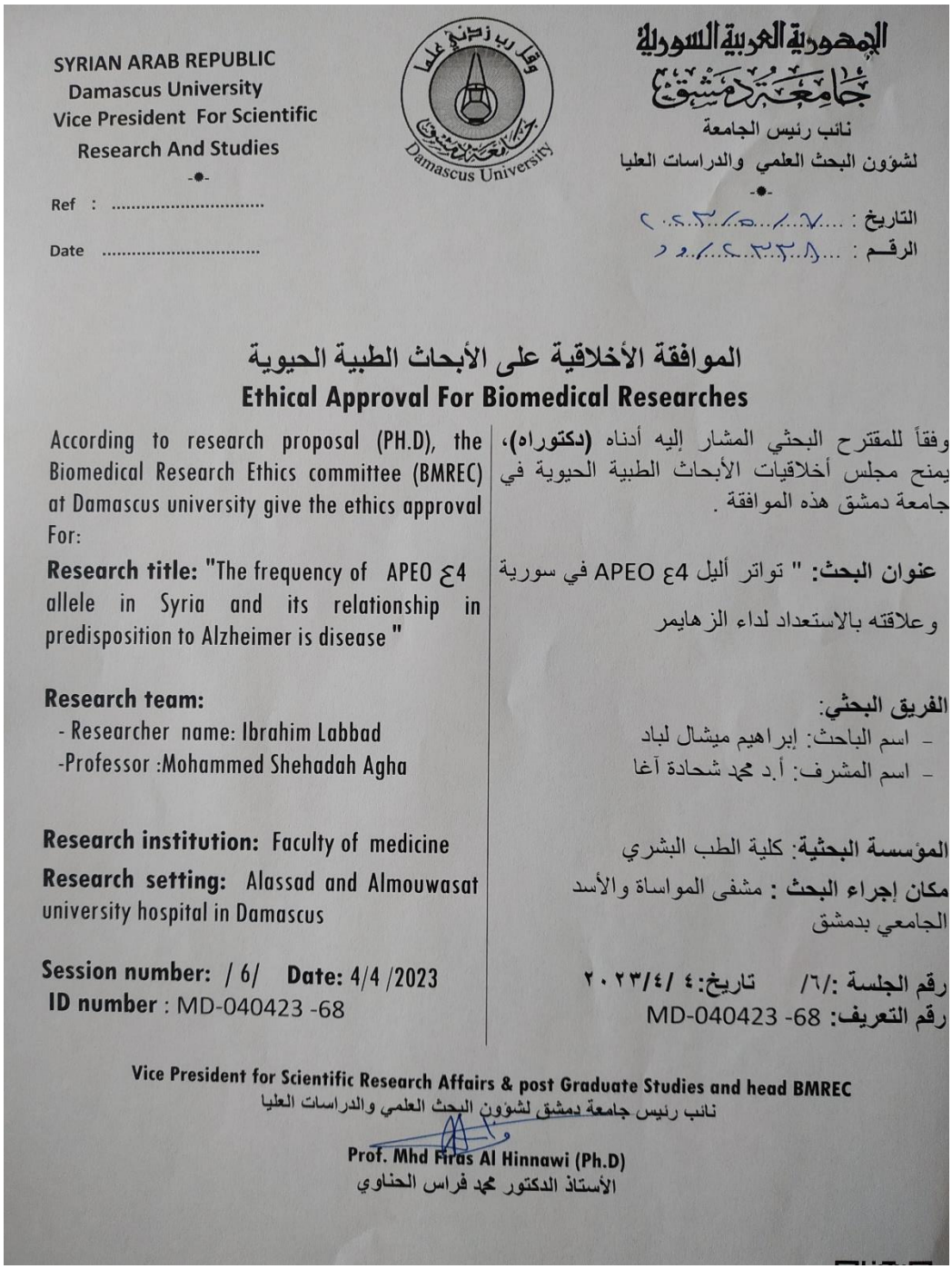
Zhong, L., Xie, Y.-Z., Cao, T.-T., Wang, Z., Wang, T., Li, X., Shen, R.-C., Xu, H., Bu, G., & Chen, X.-F. (2016). A rapid and cost-effective method for genotyping apolipoprotein E gene polymorphism. *Molecular Neurodegeneration*, *11*(1), 2. https://doi.org/10.1186/s13024-016-0069-4

Zhou, R., Chen, H., Ye, F., Huang, S., & Zhang, J. (2020). Influence of Hypertension on Longitudinal Changes in Brain Glucose Metabolism Was Modified by the APOE4 Allele Among Cognitively Normal Older Individuals. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *12*, 85. https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00085

Zhou, Z., Ryan, J., Tonkin, A. M., Zoungas, S., Lacaze, P., Wolfe, R., Orchard, S. G., Murray, A. M., McNeil, J. J., Yu, C., Watts, G. F., Hussain, S. M., Beilin, L. J., Ernst, M. E., Stocks, N., Woods, R. L., Zhu, C., Reid, C. M., Shah, R. C., … Nelson, M. R. (2023). Association Between Triglycerides and Risk of Dementia in Community-Dwelling Older Adults: A Prospective Cohort Study. *Neurology*, *101*(22). https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000207923

10- الملاحق Appendix

10-1 الموافقة الأخلاقية



SYRIAN ARAB REPUBLIC
Damascus University
Vice President For Scientific
Research And Studies
-●-
Ref : .....
Date .....

الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
نائب رئيس الجامعة
لشؤون البحث العلمي والدراسات العليا
-●-
التاريخ : ٢٠٢٣/٥/٧
الرقم : ٣٣٨٥/٢٠٢٣

الموافقة الأخلاقية على الأبحاث الطبية الحيوية
Ethical Approval For Biomedical Researches

According to research proposal (PH.D), the Biomedical Research Ethics committee (BMREC) at Damascus university give the ethics approval For:

Research title: "The frequency of APEO ع4 allele in Syria and its relationship in predisposition to Alzheimer is disease "

Research team:
- Researcher name: Ibrahim Labbad
-Professor :Mohammed Shehadah Agha

Research institution: Faculty of medicine

Research setting: Alassad and Almouwasat university hospital in Damascus

Session number: / 6/ **Date:** 4/4 /2023
ID number : MD-040423 -68

وفقاً للمقترح البحثي المشار إليه أدناه **(دكتوراه)**، يمنح مجلس أخلاقيات الأبحاث الطبية الحيوية في جامعة دمشق هذه الموافقة .

عنوان البحث: " تواتر أليل APEO ع4 في سورية وعلاقته بالاستعداد لداء الزهايمر

الفريق البحثي:
- اسم الباحث: إبراهيم ميشال لباد
- اسم المشرف: أ.د محمد شحادة آغا

المؤسسة البحثية: كلية الطب البشري
مكان إجراء البحث : مشفى المواساة والأسد الجامعي بدمشق

رقم الجلسة :/٦/ **تاريخ:** ٤/٤/ ٢٠٢٣
رقم التعريف: MD-040423 -68

Vice President for Scientific Research Affairs & post Graduate Studies and head BMREC
نائب رئيس جامعة دمشق لشؤون البحث العلمي والدراسات العليا

Prof. Mhd Firas Al Hinnawi (Ph.D)
الأستاذ الدكتور محمد فراس الحناوي

10-2 الموافقة المستنيرة Informed Consent

سيتم إجراء دراسة حول تواتر أليل Apoe ε4 عند مرضى داء ألزهايمر في سورية.

إن موافقتكم على الاشتراك في بحثنا يعني تزويدنا بالمعلومات المتعلقة بمرضكم لملء استبيان خاص بالبحث علماً بأن هذه المعلومات ضرورية من أجل متابعة حالتكم الصحية، وهذه المعلومات ستبقى سرية ولا يمكن لأحد الاطلاع عليها، سيتم ترميز المشاركين والمشاركات (إعطاؤهم أرقام دون ذكر أسماء)، كما أتعهد بعدم إجراء أي استقصاء غير ضروري لحالة المريض وعدم إعطاء أي دواء تجريبي أو أي تداخل دوائي أو استقصائي من شأنه أن يؤذي المريض بقصد أو غير قصد.

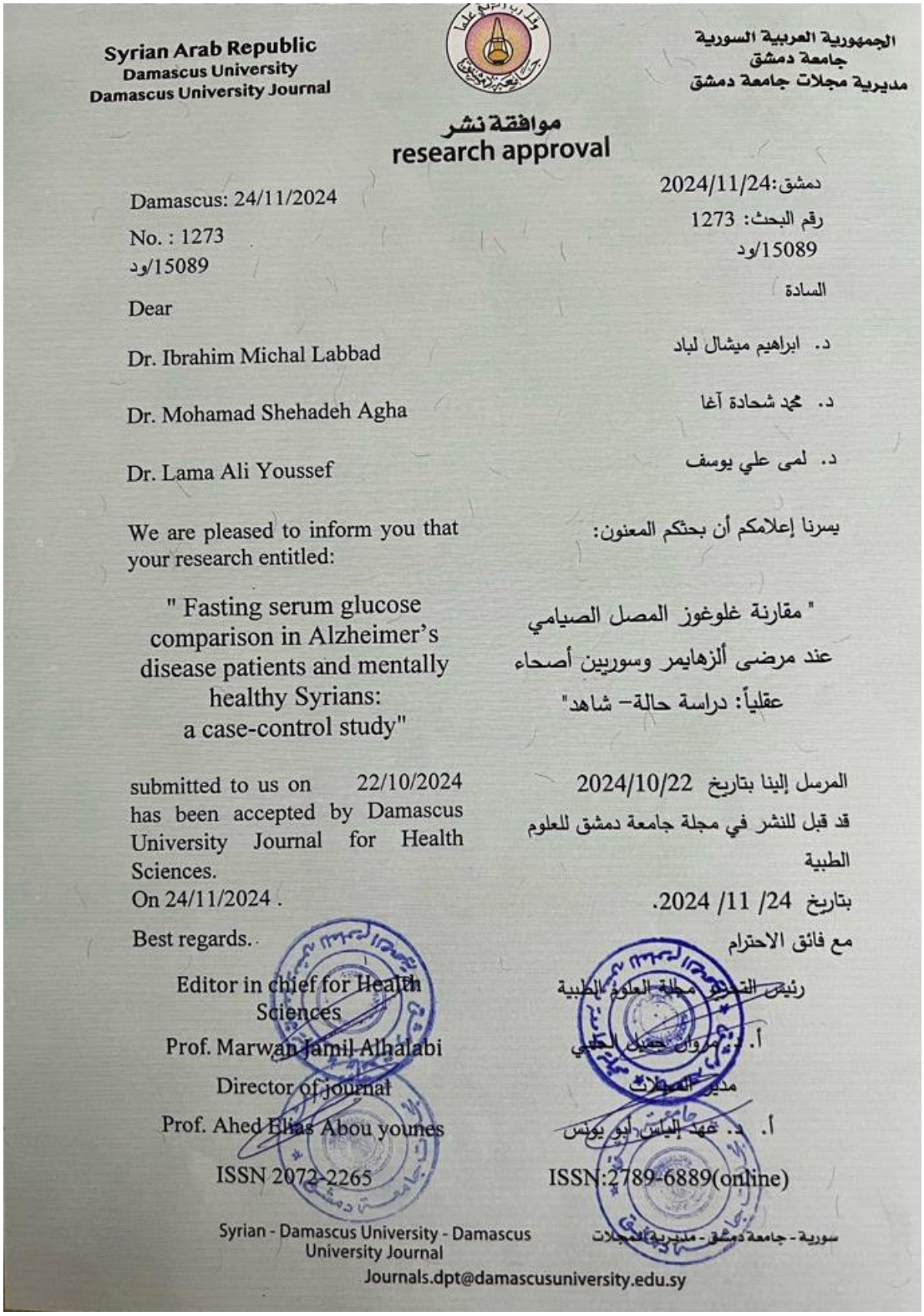
أود أن أشير أن المشارك لن يحصل على أية تعويضات أو مقابل مادي، كما أن رفض المشاركة ليس له أية تبعات، وسينال المريض حقه من العناية الطبية اللازمة، لذا المشاركة ليست إلزامية، ولكم الحرية الكاملة في اختيار المشاركة من عدمها، ولكم حق الانسحاب متى شئتم، فمن رغب بالمشاركة فليسجل اسمه مع التوقيع أسفل الاستمارة.

لقد تمت قراءة هذه الاستمارة، وأوافق طوعاً على اشتراكي في هذا البحث كمشارك، وأدرك أنني أملك فرصة الاستفسار عن أي أمر مع ضرورة الإجابة، كما أملك حق الانسحاب في أي وقت أشاء، وأن ذلك لن يعرضني لأي ضرر، وعليه أوقع.

ملاحظة: بالنسبة للأشخاص الذين لا يجيدون القراءة والكتابة، تم شرح هدف البحث لهم وأخذ موافقتهم الشفهية بحضور فرد من عائلتهم.

الرقم المتسلسل للمشارك	التاريخ	الاسم والتوقيع

10-3 موافقة النشر الأولى



Syrian Arab Republic
Damascus University
Damascus University Journal

الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
مديرية مجلات جامعة دمشق

موافقة نشر
research approval

Damascus: 24/11/2024
No. : 1273
15089/ود

دمشق:2024/11/24
رقم البحث: 1273
15089/ود

Dear

السادة

Dr. Ibrahim Michal Labbad

د. ابراهيم ميشال لباد

Dr. Mohamad Shehadeh Agha

د. محمد شحادة آغا

Dr. Lama Ali Youssef

د. لمى علي يوسف

We are pleased to inform you that your research entitled:

يسرنا إعلامكم أن بحثكم المعنون:

" Fasting serum glucose comparison in Alzheimer's disease patients and mentally healthy Syrians: a case-control study"

" مقارنة غلوغوز المصل الصيامي عند مرضى ألزهايمر وسوريين أصحاء عقلياً: دراسة حالة- شاهد"

submitted to us on 22/10/2024 has been accepted by Damascus University Journal for Health Sciences.
On 24/11/2024 .

المرسل إلينا بتاريخ 2024/10/22
قد قبل للنشر في مجلة جامعة دمشق للعلوم الطبية
بتاريخ 24/ 11/ 2024.

Best regards.

مع فائق الاحترام

Editor in chief for Health Sciences
Prof. Marwan Jamil Alhalabi

رئيس التحرير مجلة العلوم الطبية
أ. د. مروان جميل الحلبي

Director of journal
Prof. Ahed Elias Abou younes

مدير المجلات
أ. د. عهد إلياس أبو يونس

ISSN 2072-2265

ISSN:2789-6889(online)

Syrian - Damascus University - Damascus University Journal

سورية - جامعة دمشق - مديرية المجلات

Journals.dpt@damascusuniversity.edu.sy

4-10 موافقة النشر الثانية

Syrian Arab Republic
Damascus University
Damascus University Journal

الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
مديرية مجلات جامعة دمشق

موافقة نشر
research approval

Damascus: 02/12/2024
No. : 1284
15160/ود

دمشق:2024/12/02
رقم البحث: 1284
15160/ود

Dear

السادة

Dr. Ibrahim Michal Labbad

د. ابراهيم ميشال لباد

Dr. Mohamad Shehadeh Agha

د. محمد شحادة آغا

Dr. Lama Ali Youssef

د. لمى علي يوسف

We are pleased to inform you that your research entitled:

يسرنا إعلامكم أن بحثكم المعنون:

" Lipid profile in a Syrian sample of Alzheimer's disease patients: a case-control study"

" بروفيل الشحميات لدى عينة من السوريين المصابين بمرض ألزهايمر: دراسة حالة – شاهد"

submitted to us on 31/10/2024 has been accepted by Damascus University Journal for Health Sciences.
On 02/12/2024 .

المرسل إلينا بتاريخ 2024/10/31
قد قبل للنشر في مجلة جامعة دمشق للعلوم الطبية
بتاريخ 02/ 12/ 2024.

Best regards.

مع فائق الاحترام

Editor in chief for Health Sciences

Prof. Marwan Jamil Alhalabi

رئيس التحرير مجلة العلوم الطبية

أ.د. مروان جميل الحلبي

Director of journal

Prof. Ahed Elias Abou younes

مدير المجلات

أ. د. عهد إلياس أبو يونس

ISSN 2072-2265

ISSN:2789-6889(online)

Syrian - Damascus University - Damascus University Journal

سورية - جامعة دمشق - مديرية المجلات

Journals.dpt@damascusuniversity.edu.sy

10-5 التسلسلات

Sample number	Patient vs. control	rs429358	rs7412	APOE
1	P	T	C	E3
2	P	T	C	E3
3	P	T	C	E3
5	C	T	C	E3
7	C	T	C	E3
8	P	T	C	E3
10	**P**	**C**	**C**	**E4**
11	**P**	**T**	**T**	**E2**
12	**P**	**C**	**C**	**E4**
13	P	T	C	E3
14	P	T	C	E3
15	C	T	C	E3
16	P	T	C	E3
17	**C**	**T**	**T**	**E2**
18	C	T	C	E3
19	C	T	C	E3
21	C	T	C	E3
24	P	T	C	E3
26	C	T	C	E3
27	**P**	**C**	**C**	**E4**
31	P	T	C	E3
32	C	T	C	E3
34	P	T	C	E3
35	C	T	C	E3
36	C	T	C	E3

37	C	T	C	E3
38	C	T	C	E3
39	P	T	C	E3
42	C	T	C	E3
43	**P**	**C**	**C**	**E4**
44	C	T	C	E3
46	C	T	C	E3
48	C	T	C	E3
49	**P**	**C**	**C**	**E4**
50	C	T	C	E3
51	**C**	**T**	**T**	**E2**
52	P	T	C	E3
54	P	T	C	E3
55	**P**	**C**	**C**	**E4**
56	P	T	C	E3
58	P	T	C	E3
59	P	T	C	E3
60	P	T	C	E3
62	P	T	C	E3
63	P	T	C	E3
65	**P**	**T**	**T**	**E2**
66	**P**	**C**	**C**	**E4**
67	P	T	C	E3
68	P	T	C	E3
70	P	T	C	E3
72	P	T	C	E3
73	P	T	C	E3
75	**P**	**C**	**C**	**E4**

76	P	T	C	E3
77	**P**	**C**	**C**	**E4**
78	P	T	C	E3
79	P	T	C	E3
80	P	T	C	E3
81	P	T	C	E3
83	P	T	C	E3
84	**P**	**C**	**C**	**E4**
85	C	T	C	E3
86	C	T	C	E3
87	P	T	C	E3
89	**P**	**C**	**C**	**E4**
90	**P**	**C**	**C**	**E4**
91	C	T	C	E3
92	C	T	C	E3
93	C	T	C	E3
94	C	T	C	E3
95	C	T	C	E3
96	C	T	C	E3
97	C	T	C	E3
99	P	T	C	E3
101	C	T	C	E3
104	C	T	C	E3
105	C	T	C	E3
106	C	T	C	E3
107	C	T	C	E3
109	C	T	C	E3
110	C	T	C	E3

111	C	T	C	E3
112	P	T	C	E3
119	C	T	C	E3
120	C	T	C	E3

Abstract

Background: Alzheimer's disease is the leading cause of dementia in adults. Recent studies seek to identify pathogenic mechanisms at the molecular level and attempt to reverse them. The Apoe ε4 allele is the most important genetic factor in late-onset Alzheimer's disease, but study results have varied across races and ethnicities.

Aim: Given the lack of information in Syria about the frequency of the Apoe ε4 allele and its relationship to Alzheimer's disease, our study aimed to determine the frequency of the allele in a population of Syrian Alzheimer's patients and compare it with the frequency in a similar age group of individuals without Alzheimer's.

Methods: Our study was a case-control study, and included 60 Alzheimer's patients and 60 controls of the same age group. Patients were diagnosed according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5) criteria for diagnosing Alzheimer's disease. Laboratory assays were performed for both serum lipids (total cholesterol, low-density lipoprotein LDL, high-density lipoprotein HDL, triglycerides) and fasting glucose. Specific PCR products were genotyped by the standard sequence method. We analyzed

the data according to several appropriate statistical tests using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) in version 23.

Results: The study population was 120 individuals (60 patients and 60 controls). The age range ranged from 65-103 years, with a mean of 77.8 years and a standard deviation of 8.1 years. Females constituted the majority of the population at a rate of 61.7%, while the percentage of males did not exceed 38.3%. The values of total cholesterol, LDL, HDL, and serum triglycerides were similar between the groups of patients and controls (P= 0.327, P= 0.267, P= 0.843, P= 0.353, respectively). As for fasting glucose, patients had higher values compared to controls, with a statistically significant difference (P= 0.015). The frequency of the ε4 allele was 12.8% in patients, while it was non-existent in controls. As for the ε3 allele, its frequency was 85.1% in patients and 97.4% in controls. As for the ε2 allele, its frequency was 2.1% in patients and 2.6% in controls. The ε3/ε3 genotype was the most common in controls (94.7%) and patients (70.2%), while the ε2/ε3 genotype was the least common, with a frequency that did not exceed 4.3% of patients and 5.3% of controls. The frequency of genotype ε3/ε4 was 25.5% of patients and 0% of controls.

Conclusions: Our results demonstrated that Alzheimer's disease was associated in approximately a quarter of patients with the presence of one copy of the Apoe ε4 risk allele, while the frequency of this allele was non-existent in Syrians who did not suffer from Alzheimer's disease. The current study is the first of its kind to be conducted in Syria to investigate the frequency of the Apoe allele in Syrians and its relationship to Alzheimer's disease.

Keywords: Alzheimer's disease, apolipoprotein E, single nucleotide polymorphism, frequency, allele, Syrians.

Syrian Arab Republic

Damascus University

Faculty of Medicine

Department of Internal Medicine

The Frequency of APOE ε4 Allele in Syria and its Relationship with Predisposition to Alzheimer's Disease

A thesis submitted in for the degree of PhD in Neurology

Main Supervisor

Dr. Mohamad Shehadeh Agha

Co-Supervisor

Dr. Lama Yossef

By

Ibrahim Labbad