

Phylogenetic Study of GABA_A Receptors in Human and Rat Species: Evaluation of Family Relationship

Zahrasadat Hashemi¹, Arezou Eshaghabadi², Fatemeh Alipour², Maryam Jafarian², Sayed Mostafa Modarres Mousavi^{2, 3*}

¹School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

²Shefa Neuroscience Research Center, Khatam Alanbia Hospital, Tehran, Iran

³Department of Nanobiotechnology, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Article Info:

Received: 6 May 2016

Accepted: 10 Aug 2016

ABSTRACT

Introduction: An effort to establish phylogenetic values for the major gamma-Aminobutyric acid A (GABA_A) receptor subunit mRNAs α , β , γ , δ , ϵ , θ , π could be improved our knowledge on their classification and function. In addition, the similarities and divergences between different species can be important to determine the function of these receptors. **Materials and Methods:** After alignment of mRNA complete gene sequences of GABA_A subunits in homosapinse and rattus norvegicus species, the phylogenetic tree were constructed with CLC Main Workbench 5.5 software. **Results:** The results revealed highly similarities between GABA_A subunits of homosapience and rattus norvegicus. In addition, these findings illustrated some divergences between β_1 , β_2 , β_3 , γ_1 , γ_2 , ϵ and θ subunits with other subunits. **Conclusion:** The similarities and divergences among various GABA_A subunits may be an important cause of different distribution and function of GABA_A subunits in different region of the central nervous system.

Key words:

1. gamma-Aminobutyric Acid
2. Family Relations
3. Brain

*Corresponding Author: Sayed Mostafa Modarres Mousavi

E-mail: modarres.mousavi@gmail.com

مطالعه فیلوژنتیکی گیرنده‌های GABA_A در گونه‌های انسان و موش صحرایی: ارزیابی قرابت خانوادگی

زهراسادات هاشمی^۱، آرزو اسحق آبادی^۲، فاطمه علی‌پور^۲، مریم جعفریان^۲، سید مصطفی مدرس موسوی^{۳*}

^۱دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

^۲مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا، بیمارستان خاتم الانبیاء، تهران، ایران

^۳گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۲۰ مرداد ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۱۷ اردیبهشت ۱۳۹۵

چکیده

مقدمه: تلاش جهت ایجاد ارزش‌های فیلوژنتیک mRNA زیرواحدهای اصلی گیرنده GABA_A شامل α ، β ، γ ، δ ، ϵ ، θ ، π می‌تواند دانش ما را در طبقه‌بندی و عملکرد آن‌ها بهبود بخشد. علاوه بر این، تشابهات و واگرایی بین گونه‌های مختلف می‌تواند برای مشخص کردن عملکرد این گیرنده‌ها مهم باشد. **مواد و روش‌ها:** پس از هم‌ردیفی توالی‌های کامل mRNA زیرواحدهای GABA_A در گونه‌های انسان و موش صحرایی، درخت فیلوژنتیک با نرم‌افزار CLC Main Workbench 5.5 رسم گردید. **یافته‌ها:** نتایج، تشابهات بسیاری را بین زیرواحدهای GABA_A انسان و موش صحرایی نشان داد. علاوه بر این، این یافته‌ها مقداری واگرایی بین زیرواحدهای β_1 ، β_2 ، β_3 ، γ_1 ، γ_2 و ϵ و θ با سایر زیرواحدها را نشان داد. **نتیجه‌گیری:** تشابهات و واگرایی میان زیرواحدهای مختلف GABA_A ممکن است از علل مهم توزیع و عملکردهای مختلف زیرواحدهای GABA_A در مناطق مختلف سیستم عصبی مرکزی باشد.

کلیدواژه‌ها:

۱. گاما آمینو بوتیریک اسید
۲. قرابت‌های خانوادگی
۳. مغز

* نویسنده مسئول: سید مصطفی مدرس موسوی

آدرس الکترونیکی: modarres.mousavi@gmail.com

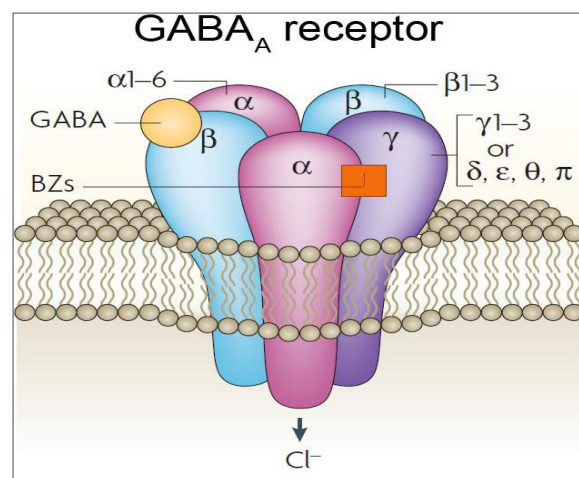
مقدمه

گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA)^۱، به عنوان مهم ترین انتقال دهنده عصبی مهاری در مغز مهره داران شناخته می شود (۱). سیستم گابائریک نقش مهمی در هماهنگی شبکه های عصبی موضعی، ارتباطات نواحی مغزی و عملکرد آن ها ایفاء می نماید (۲، ۳). گیرنده های GABA شامل انواع $GABA_A$ ، $GABA_B$ و $GABA_C$ می باشند. گیرنده های $GABA_A$ و $GABA_C$ از نوع یونوتروپیک و گیرنده $GABA_B$ از نوع متابوتروپیک است (۴-۶).

آنزیم گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز (GAD)^۲ یک آنزیم سیتوپلاسمی برگشتناپذیر است و به صورت یکطرفه، گلوتمات را به GABA تبدیل می کند. این آنزیم دارای دو ایزوفرم GAD_{65} و GAD_{67} است. ایزوفرم GAD_{67} در جسم سلولی و ایزوفرم GAD_{65} در پایانه عصبی بیان می شود (۷). بنابراین می توان نتیجه گرفت که ایزوفرم GAD_{65} در انتقال پیام عصبی در سیناپس ها نقش مهم تری را بر عهده دارد (۶).

زیرواحدهای آلفا (α)، بتا (β)، گاما (γ)، دلتا (δ)، اپسیلون (ϵ)، تتا (θ)، پی (π) و رو (ρ) هشت نوع زیرواحد متفاوت گیرنده $GABA_A$ در سیستم عصبی پستانداران می باشند. زیر واحد α دارای شش ایزوفرم شامل α_1 تا α_6 زیرواحد β دارای سه ایزوفرم شامل β_1 تا β_3 زیرواحد γ دارای سه ایزوفرم شامل γ_1 تا γ_3 و زیرواحدهای δ ، ϵ ، θ و π دارای یک نوع ایزوفرم می باشند (۶، ۸).

یک گیرنده $GABA_A$ به صورت معمول از دو زیرواحد α ، دو زیرواحد β و یک زیرواحد γ تشکیل می شود، به طوری که این زیرواحدها به شکل γ - β - α - β - α در اطراف کانال گیرنده قرار می گیرند (تصویر ۱). در مغز، بیان زیرواحدهای α_1 ، β_2 و γ_2 در ساختار گیرنده $GABA_A$ بیشترین فراوانی را دارند. ترکیبات متفاوت زیرواحدها دستوری برای نحوه توزیع آن ها در سطح سلول و نیز



تصویر ۱- شکل سه بعدی نحوه قرارگیری زیرواحدهای مختلف برای ایجاد یک گیرنده پنتامر $GABA_A$ (۶، ۸).

تنظیم پویای آن ها به شمار می آید (۵، ۶، ۹).

ارتباط گیرنده های GABA با بعضی اختلالات عصبی

کمبود گیرنده $GABA_A$ در انسان سبب ایجاد استعداد برای اختلال اضطراب می شود (۳، ۶). گیرنده های $GABA_A$ حاوی زیرواحد γ_2 ، در اضطراب و داشتن زمینه اضطرابی نقش مهم تری دارند. صرع نیز یکی از رایج ترین اختلالات عصبی است و جهش در زیرواحدهای α_1 ، γ_2 و δ با ایجاد علایم صرع در نواحی مغز جلویی در ارتباط است (۱۰). زیر نوع های متفاوت گیرنده $GABA_A$ که دارای ترکیب متفاوتی از زیرواحدهای گیرنده $GABA_A$ هستند در نواحی خاصی از مغز افراد صرعی تجمع می یابند که با افراد سالم متفاوت است (۱۱، ۶).

به علاوه غیرطبیعی بودن عملکرد نورون های گابائریک یا برقراری اتصالات بین آن ها باعث ایجاد نسبت های غیر متعادل پیام های مهاری - تحریکی در رابطه با احساسات، حافظه، معاشرت اجتماعی و سیستم هیجانی می شود که این حالت در مغز افراد اوتیسمی^۳ اتفاق می افتد. تغییرات در سیستم گابائریک افراد اوتیسمی نسبت به افراد سالم مشهود بوده به صورتی که در بیماری اوتیسم، زیر واحدهای α_1 ، α_4 ، β_1 و β_3 گیرنده $GABA_A$ به طور قابل توجهی کاهش یافته و منجر به کاهش قابل توجه در جایگاه اتصال به بنزودیازپین در مغز افراد می گردد.

لذا نقص در پیام رسانی سیستم گابائریک باعث ایجاد اختلال اوتیسم می شود (۲، ۳، ۶). همچنین در بررسی مغز بیماران اسکیزوفرنی^۴ پس از مرگ، تغییر در سیستم قشری گابائریک شامل کاهش در آزاد شدن و باز جذب GABA و کاهش فعالیت GAD گزارش گردیده است. در مغز افراد اسکیزوفرنی، mRNA می مربوط به زیرواحدهای α_1 ، α_2 ، α_3 ، α_4 ، β_1 و β_3 در قشر پیشانی افزایش می یابد (۶). به علاوه کاهش مهار گابائریک باعث بروز اختلال خواب می شود (۶). با توجه به اهمیت بسیار زیاد گیرنده های $GABA_A$ و نقش های مختلف آن در سیستم عصبی و بیماری های مرتبط با آن و همچنین با توجه به استفاده از موش های صحرایی در بسیاری از مطالعات تحقیقاتی بررسی میزان قرابت این گیرنده ها در بین دو گونه از سویی و همچنین میزان قرابت انواع مختلف آن ها با یکدیگر در هرگونه می تواند حائز اهمیت باشد.

مواد و روش ها

پس از استخراج فایل های FASTA سکانس های رفرانس mRNA گیرنده های مختلف $GABA_A$ انسان و موش صحرایی، به منظور بررسی میزان تشابه^۵ توالی ها از دستور Create Alignment نرم افزار CLC Main Workbench 5.5 جهت هم ردیفی^۶ توالی تمامی سکانس های موردنظر استفاده گردید. در پایان نیز

^۱ Gamma-aminobutyric acid (GABA)

^۲ Glutamic Acid Decarboxylase (GAD)

^۳ Autism

^۴ Schizophrenia

^۵ Similarities

^۶ Alignment

تکامل در بیولوژی به معنی ایجاد شکلی زیستی از سایر اشکالی که قبلاً وجود داشته‌اند و یا ایجاد اشکال زیستی از زمان پیرایش آن به شکل فعلی به وسیله فرایند انتخاب و اصلاح طبیعی است. انتخاب طبیعی، نیروی پیش برنده تکامل است و طی آن اشکال ناسازگار، در اثر تغییرات وضعیت محیطی یا انتخاب جنسیتی حذف می‌شوند و فقط سازگارترین‌ها انتخاب می‌گردند. جهش‌های ژنتیکی که به صورت خودبه‌خود رخ می‌دهند، به‌عنوان مکانیسم اصلی تکامل شناخته می‌شوند. جهش ماده ژنتیکی، در جمعیت تنوع زیستی ایجاد می‌کند و تنوع افراد جمعیت موجب بقای موجود موفق‌تر در یک محیط معین می‌گردد.

در نواحی مختلف مغز، گیرنده‌های GABA دارای تفاوت‌هایی در ترکیب زیرواحدهایشان هستند و گیرنده‌هایی با ترکیب زیرواحدی خاص در هر ناحیه، در عملکردهای مربوط به سیستم گابائژیک در آن ناحیه نقش مهمی دارند (۶). بنابراین گیرنده‌های $GABA_A$ ، گزینه‌های خوبی برای مطالعه مکانیسم ایجاد بیماری‌های مختلف عصبی به شمار می‌آیند و با توجه به قرابت خانوادگی بسیار بالای آن‌ها با یکدیگر در انسان و موش صحرایی نشان از جدا شدن آن‌ها از یک نیای مشترک دارد و می‌توان گفت به همین دلیل است که نقش‌های آن‌ها در انواع اختلالات عصبی نیز در این دو گونه بسیار به هم شباهت دارند.

درخت فیلوژنتیکی آن‌ها با استفاده از دستور Create Tree نرم‌افزار CLC Main Workbench 5.5 رسم گردید.

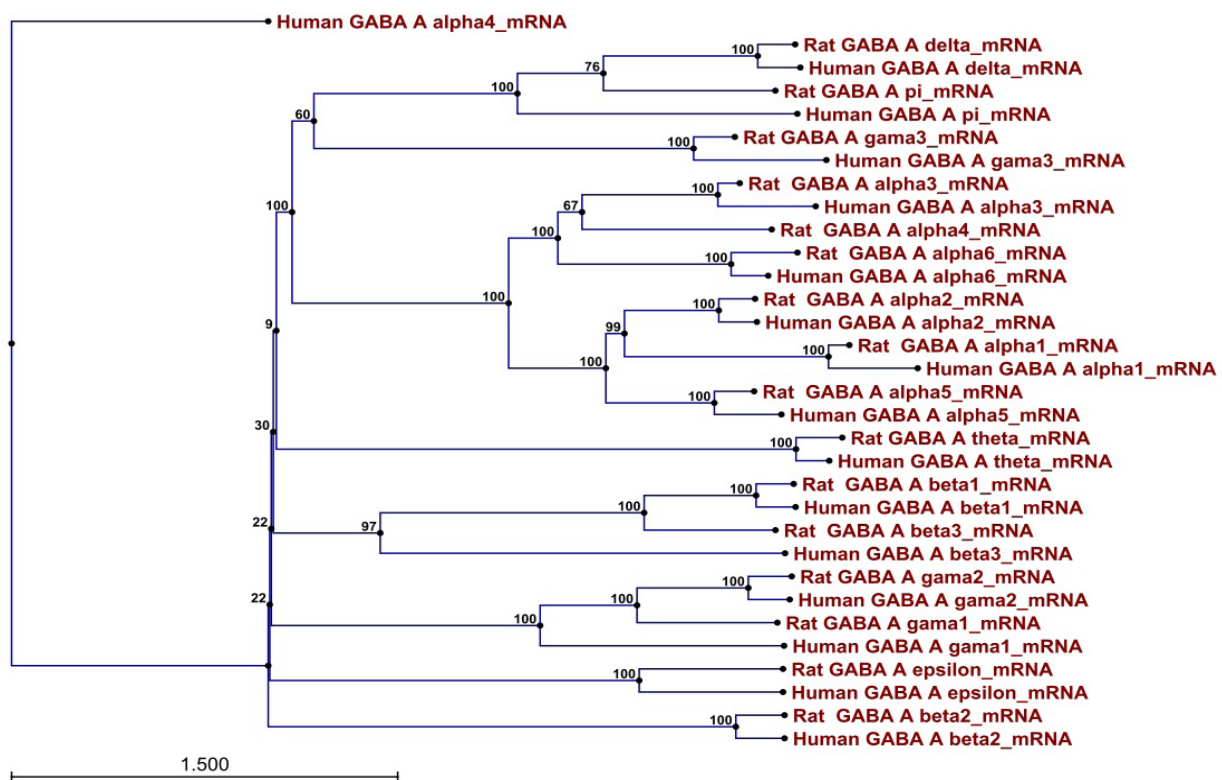
یافته‌ها

همان‌گونه که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، تمامی زیرواحدهای گیرنده $GABA_A$ در دو گونه انسان و موش صحرایی، تشابه ۱۰۰ درصدی با یکدیگر دارند به جز زیرواحد α_4 گیرنده $GABA_A$ موش صحرایی که ۶۷٪ تشابه با زیرواحدهای α_3 گیرنده‌های $GABA_A$ در انسان و موش صحرایی را نشان می‌دهد.

همچنین زیرواحد α_4 گیرنده $GABA_A$ انسان یک واگرایی^۷ بسیار زیادی را نسبت به سایر زیرواحدهای گیرنده $GABA_A$ در انسان و موش صحرایی نشان می‌دهد. به‌علاوه همان‌گونه که در نمودار مشهود است مقداری واگرایی بین زیرواحدهای $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \gamma_1, \gamma_2, \epsilon$ و θ با سایر زیرواحدهای گیرنده‌های $GABA_A$ وجود دارد. بیشترین میزان این واگرایی بین زیرواحدهای β_1 و β_3 با زیرواحدهای $\alpha_{1-6}, \pi, \delta$ و γ_3 می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

آنالیز توالی‌های زیستی بر پایه اصول محکم تکامل استوار است. معمولاً تشابهات و واگرایی توالی‌های زیستی مرتبط با یکدیگر که با هم‌رَدیفی توالی مشخص می‌شوند، می‌بایست در قالب درخت‌های فیلوژنتیکی مورد تفسیر قرار گیرند.



نمودار ۱- درخت فیلوژنتیکی زیرواحدهای مختلف $GABA_A$ در دو گونه انسان و موش صحرایی؛ که بیانگر میزان تشابهات و واگرایی زیرواحدهای مختلف آن‌ها با یکدیگر می‌باشد.

⁷ Divergences

منابع

1. Froestl W. An historical perspective on GABAergic drugs. *Future Med Chem.* 2011; 3: 163-75.
2. Rudolph U, Mohler H. GABAA receptor subtypes: Therapeutic potential in Down syndrome, affective disorders, schizophrenia, and autism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2014; 54: 483-507.
3. Mohler H. GABAA receptors in central nervous system disease: anxiety, epilepsy, and insomnia. *J Recept Signal Transduct Res.* 2006; 26: 731-40.
4. Bormann J. The 'ABC' of GABA receptors. *Trends Pharmacol Sci.* 2000; 21: 16-9.
5. Olsen RW, Sieghart W. GABA A receptors: subtypes provide diversity of function and pharmacology. *Neuropharmacology.* 2009; 56: 141-8.
6. Rashidi A, Ahmadi S. Subunits of gamma-aminobutyric acid receptors and their roles in neuropsychological disorders. *Shefaye Khatam.* 2014; 2 (2) :70-80
7. Nasreen Z, Jameel T, Hasan A, Parveen N, Sadasivudu B. Glutamate decarboxylase and GABA aminotransferase levels in different regions of rat brain on the onset of Leptazol induced convulsions. *Neurochem Res.* 2012; 37: 202-4.
8. Jacob TC, Moss SJ, Jurd R. GABA(A) receptor trafficking and its role in the dynamic modulation of neuronal inhibition. *Nat Rev Neurosci.* 2008; 9: 331-43.
9. Farrant M, Nusser Z. Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABA(A) receptors. *Nat Rev Neurosci.* 2005; 6: 215-29.
10. Reid CA, Kullmann DM. GABAA receptor mutations in epilepsy (commentary on Lachance-Touchette et al.). *Eur J Neurosci.* 2011; 34: 235-6.
11. Drexel M, Kirchmair E, Sperk G. Changes in the expression of GABAA receptor subunit mRNAs in parahippocampal areas after kainic acid induced seizures. *Front Neural Circuits.* 2013; 7: 1-13.