

## Phylogenetic Study of GABA<sub>A</sub> Receptors in Human and Rat Species: Evaluation of Family Relationship

Zahrasadat Hashemi<sup>1</sup>, Arezou Eshaghabadi<sup>2</sup>, Fatemeh Alipour<sup>2</sup>, Maryam Jafarian<sup>2</sup>, Sayed Mostafa Modarres Mousavi<sup>2, 3\*</sup>

<sup>1</sup>School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Shefa Neuroscience Research Center, Khatam Alanbia Hospital, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Department 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<sub>A</sub>) receptor subunit mRNAs  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$ ,  $\pi$  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<sub>A</sub> 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<sub>A</sub> subunits of homosapience and rattus norvegicus. In addition, these findings illustrated some divergences between  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ,  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\epsilon$  and  $\theta$  subunits with other subunits. **Conclusion:** The similarities and divergences among various GABA<sub>A</sub> subunits may be an important cause of different distribution and function of GABA<sub>A</sub> 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<sub>A</sub> در گونه‌های انسان و موش صحرایی: ارزیابی قرابت خانوادگیزهرا سادات هاشمی<sup>۱</sup>، آرزو اسحق آبادی<sup>۲</sup>، فاطمه علی پور<sup>۲</sup>، مریم جعفریان<sup>۲</sup>، سید مصطفی مدرس موسوی<sup>۲،۳\*</sup><sup>۱</sup>دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران<sup>۲</sup>مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا، بیمارستان خاتم الانبیاء، تهران، ایران<sup>۳</sup>گروه 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<sub>A</sub> شامل  $\alpha$ ،  $\beta$ ،  $\gamma$ ،  $\delta$ ،  $\epsilon$ ،  $\theta$ ،  $\pi$  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<sub>A</sub> 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<sub>A</sub> انسان و موش صحرایی نشان داد. علاوه بر این، این یافته‌ها مقداری واگرایی بین زیرواحدهای  $\beta_1$ ،  $\beta_2$ ،  $\beta_3$ ،  $\gamma_1$ ،  $\gamma_2$ ،  $\epsilon$  و  $\theta$  با سایر زیرواحدها را نشان داد. **نتیجه‌گیری:** تشابهات و واگرایی میان زیرواحدهای مختلف GABA<sub>A</sub> ممکن است از علل مهم توزیع و عملکردهای مختلف زیرواحدهای GABA<sub>A</sub> در مناطق مختلف سیستم عصبی مرکزی باشد.

## کلید واژه‌ها:

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

\* نویسنده مسئول: سید مصطفی مدرس موسوی

آدرس الکترونیکی: modarres.mousavi@gmail.com

## مقدمه

تنظیم پویای آن‌ها به شمار می‌آید (۹، ۶، ۵).

## ارتباط گیرنده‌های GABA با بعضی اختلالات عصبی

کمبود گیرنده GABA<sub>A</sub> در انسان سبب ایجاد استعداد برای اختلال اضطراب می‌شود (۶، ۳). گیرنده‌های GABA<sub>A</sub> حاوی زیرواحد  $\gamma_2$ ، در اضطراب و داشتن زمینه اضطرابی نقش مهم‌تری دارند. صرع نیز یکی از رایج‌ترین اختلالات عصبی است و جهش در زیرواحدهای  $\alpha_1$ ،  $\gamma_2$  و  $\delta$  با ایجاد علائم صرع در نواحی مغز جلویی در ارتباط است (۱۰). زیر نوع‌های متفاوت گیرنده GABA<sub>A</sub> که دارای ترکیب متفاوتی از زیرواحدهای گیرنده GABA<sub>A</sub> هستند در نواحی خاصی از مغز افراد صرعی تجمع می‌یابند که با افراد سالم متفاوت است (۱۱، ۶).

به‌علاوه غیرطبیعی بودن عملکرد نورون‌های گابائریک یا برقراری اتصالات بین آن‌ها باعث ایجاد نسبت‌های غیر متعادل پیام‌های مهاری-تحریکی در رابطه با احساسات، حافظه، معاشرت اجتماعی و سیستم هیجانی می‌شود که این حالت در مغز افراد اوتیسمی<sup>۳</sup> اتفاق می‌افتد. تغییرات در سیستم گابائریک افراد اوتیسمی نسبت به افراد سالم مشهود بوده به صورتی که در بیماری اوتیسم، زیر واحدهای  $\alpha_1$ ،  $\alpha_4$ ،  $\beta_1$  و  $\beta_3$  گیرنده GABA<sub>A</sub> به طور قابل توجهی کاهش یافته و منجر به کاهش قابل توجه در جایگاه اتصال به بنزودیازپین در مغز افراد می‌گردد.

لذا نقص در پیام‌رسانی سیستم گابائریک باعث ایجاد اختلال اوتیسم می‌شود (۶، ۳، ۲). همچنین در بررسی مغز بیماران اسکیزوفرنی<sup>۴</sup> 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 می‌مربوط به زیرواحدهای  $\alpha_1$ ،  $\alpha_2$ ،  $\alpha_3$ ،  $\alpha_4$ ،  $\beta_1$  و  $\beta_3$  در قشر پیشانی افزایش می‌یابد (۶، ۱). به‌علاوه کاهش مهار گابائریک باعث بروز اختلال خواب می‌شود (۶). با توجه به اهمیت بسیار زیاد گیرنده‌های GABA<sub>A</sub> و نقش‌های مختلف آن در سیستم عصبی و بیماری‌های مرتبط با آن و همچنین با توجه به استفاده از موش‌های صحرایی در بسیاری از مطالعات تحقیقاتی بررسی میزان قرابت این گیرنده‌ها در بین دو گونه از سویی و همچنین میزان قرابت انواع مختلف آن‌ها با یکدیگر در هر گونه می‌تواند حائز اهمیت باشد.

## مواد و روش‌ها

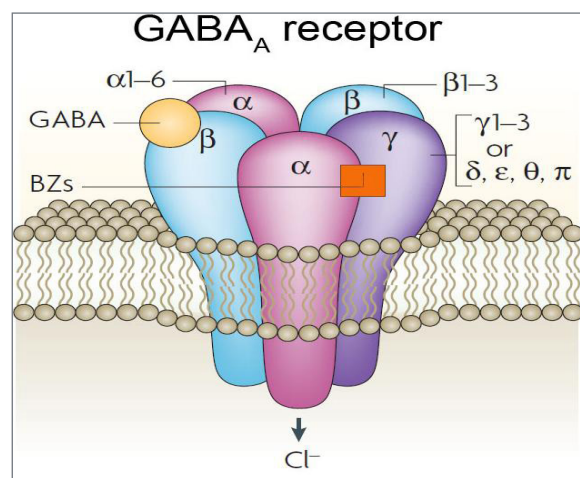
پس از استخراج فایل‌های FASTA سکانس‌های رفرانس mRNA گیرنده‌های مختلف GABA<sub>A</sub> انسان و موش صحرایی، به‌منظور بررسی میزان تشابه<sup>۵</sup> توالی‌ها از دستور Create Alignment نرم‌افزار CLC Main Workbench 5.5 جهت هم‌ردیفی<sup>۶</sup> توالی تمامی سکانس‌های موردنظر استفاده گردید. در پایان نیز

گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA)<sup>۱</sup>، به‌عنوان مهم‌ترین انتقال‌دهنده عصبی مهاری در مغز مهره‌داران شناخته می‌شود (۱). سیستم گابائریک نقش مهمی در هماهنگی شبکه‌های عصبی موضعی، ارتباطات نواحی مغزی و عملکرد آن‌ها ایفاء می‌نماید (۳، ۲). گیرنده‌های GABA شامل انواع GABA<sub>A</sub>، GABA<sub>B</sub> و GABA<sub>C</sub> می‌باشند. گیرنده‌های GABA<sub>A</sub> و GABA<sub>C</sub> از نوع یونوتروپیک و گیرنده GABA<sub>B</sub> از نوع متابوتروپیک است (۶-۴).

آنزیم گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز (GAD)<sup>۲</sup> یک آنزیم سیتوپلاسمی برگشت‌ناپذیر است و به صورت یکطرفه، گلوتمات را به GABA تبدیل می‌کند. این آنزیم دارای دو ایزوفرم GAD<sub>65</sub> و GAD<sub>67</sub> است. ایزوفرم GAD<sub>67</sub> در جسم سلولی و ایزوفرم GAD<sub>65</sub> در پایانه عصبی بیان می‌شود (۷). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ایزوفرم GAD<sub>65</sub> در انتقال پیام عصبی در سیناپس‌ها نقش مهم‌تری را بر عهده دارد (۶).

زیرواحدهای آلفا ( $\alpha$ )، بتا ( $\beta$ )، گاما ( $\gamma$ )، دلتا ( $\delta$ )، اپسیلون ( $\epsilon$ )، تتا ( $\theta$ )، پی ( $\pi$ ) و رو ( $\rho$ ) هشت نوع زیرواحد متفاوت گیرنده GABA<sub>A</sub> در سیستم عصبی پستانداران می‌باشند. زیر واحد  $\alpha$  دارای شش ایزوفرم شامل  $\alpha_1$  تا  $\alpha_6$  زیرواحد  $\beta$  دارای سه ایزوفرم شامل  $\beta_1$  تا  $\beta_3$  زیرواحد  $\gamma$  دارای سه ایزوفرم شامل  $\gamma_1$  تا  $\gamma_3$  و زیرواحدهای  $\delta$ ،  $\epsilon$ ،  $\theta$  و  $\pi$  دارای یک نوع ایزوفرم می‌باشند (۸، ۶).

یک گیرنده GABA<sub>A</sub> به‌صورت معمول از دو زیرواحد  $\alpha$ ، دو زیرواحد  $\beta$  و یک زیرواحد  $\gamma$  تشکیل می‌شود، به‌طوری‌که این زیرواحدها به شکل  $\gamma$ - $\beta$ - $\alpha$ - $\beta$ - $\alpha$  در اطراف کانال گیرنده قرار می‌گیرند (تصویر ۱). در مغز، بیان زیرواحدهای  $\alpha_1$ ،  $\beta_2$  و  $\gamma_2$  در ساختار گیرنده GABA<sub>A</sub> بیشترین فراوانی را دارند. ترکیبات متفاوت زیرواحدها دستوری برای نحوه توزیع آن‌ها در سطح سلول و نیز



تصویر ۱- شکل سه بعدی نحوه قرارگیری زیرواحدهای مختلف برای ایجاد یک گیرنده پنتامر GABA<sub>A</sub> (۸، ۶).

<sup>1</sup> Gamma-aminobutyric acid (GABA)

<sup>2</sup> Glutamic Acid Decarboxylase (GAD)

<sup>3</sup> Autism

<sup>4</sup> Schizophrenia

<sup>5</sup> Similarities

<sup>6</sup> 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 گابائریک 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 مشابهت دارند.

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

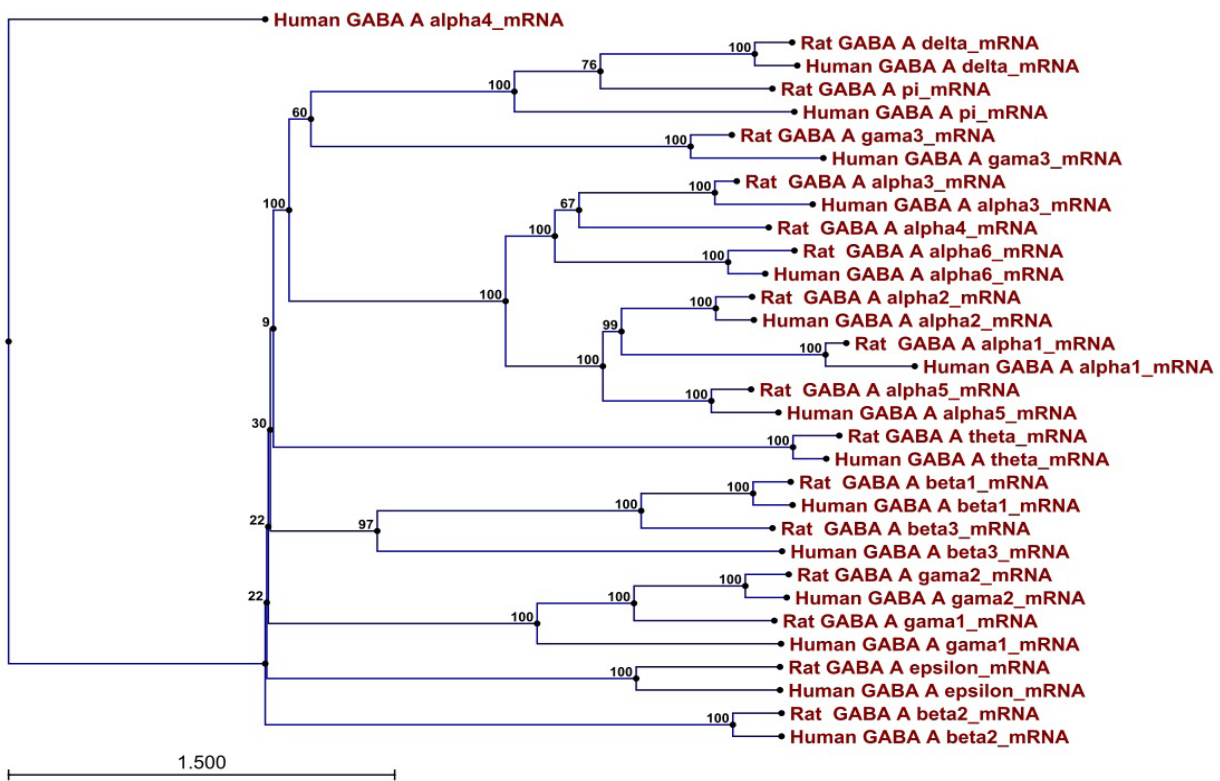
### یافته‌ها

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 به‌جز زیرواحد  $\alpha_4$  گیرنده  $GABA_A$  موش صحرایی که ۶۷٪ تشابه با زیرواحدهای  $\alpha_3$  گیرنده‌های  $GABA_A$  در انسان و موش صحرایی را نشان می‌دهد.

همچنین زیرواحد  $\alpha_4$  گیرنده  $GABA_A$  انسان یک واگرایی<sup>۷</sup> 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  $\theta$  با سایر زیرواحدهای گیرنده‌های  $GABA_A$  وجود دارد. بیشترین میزان این واگرایی بین زیرواحدهای  $\beta_1$  و  $\beta_3$  با زیرواحدهای  $\alpha_{1-6}, \pi, \delta, \gamma_3$  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 هم‌ردیفی 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.

<sup>7</sup> 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.