Archive of SID

Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2017; 20(120): 12-21

Studying the Expression of SNX2 (Sorting nexin-2) in Patients with RRMS Compared with Health Control

Fariba Bani Talebi Dehkordi[1], Somayeh Reiisi[2*], Asghar Bayati[3], Parisa Mohammadi Nejad[4]

1.M.Sc Student in Genetics, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
2.Assistant Professor, Department of Genetics, Faculty of Basic Sciences, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran
3.Neurologist, Department of Neurology, Shahrekord University of Medical Sciences and Health Services, Shahrekord, Iran
4. Assistant Professor, Department of Genetics, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Received:5 Feb 2017, Accepted: 26 Apr 2017

Abstract

Background: Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory disorder described by central nervous system (CNS) demyelination and axonal damage. While the cause of MS is still unknown, it is extensively accepted that novel drug targets need to attention. Retromers are protein complex that have an essential role in endosomal trafficking, and retromer dysfunction has been associated to several neurological disorders. Therefore, this study aimed to compare the expression of SNX2 gene as a part of retromer complex in MS patients with health individuals.

Materials and Methods: In this case-control study, 50 samples of cases of multiple sclerosis (MS) and 50 healthy controls were enrolled. Followed verifying disease, 3cc peripheral blood was given from all subjects. Total RNA was extracted and complementary DNA (cDNA) was synthesized. The relative gene expression was determined using quantitative real-time RT PCR (qRT-PCR) and evaluated by $2^{-\Delta\Delta ct}$ method.

Results: The expression of SNX2 gene was lower in MS patients compared with healthy controls and it was statistically significant ($p< 0.05$).

Conclusion: Our study showed that the expression of SNX2 is lower in multiple sclerosis disorder. Considering the functional role of SNX2 as a protein involved in trafficking process, SNX2 may affect receptor function or drug targeting. Therefore, supplementary studies should be done to elucidate the exact mechanism of action of the gene in cellular trafficking.

Keywords: Multiple sclerosis, Real-time PCR, RRMS, SNX2

*Corresponding Author:
Address: Department of Genetics, Faculty of Basic Sciences, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran
Email: s.reiisi@sci.sku.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:10 +0330 on Monday September 25th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۲۰، شماره ۳ (شماره پیاپی ۱۲۰)، خرداد ۱۳۹۶، ۲۱-۱۲

بررسی بیان ژن SNX2 (Sorting nexin-2) در بیماران مالتیپل اسکلروزیس RRMS در مقایسه با افراد سالم

فریبا بنی طالبی دهکردی[۱]، سمیه رئیسی[۲*]، اصغر بیاتی[۳]، پریسا محمدی نژاد[۴]

۱.دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲.استادیار، گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳.متخصص مغز و اعصاب، گروه عصب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۴.استادیار، گروه ژنتیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۶

چکیده

زمینه و هدف: مالتیپل اسکلروزیس(MS) یک اختلال التهابی مزمن است که به وسیله دمیلیناسیون سیستم عصبی مرکزی(CNS) و آسیب آکسونی توصیف می‌شود. در حالی که دلیل MS هنوز ناشناخته است، این موضوع به صورت گسترده پذیرفته شده است که توجه به هدف‌های دارویی جدید مورد نیاز است. رترومرها کمپلکس پروتئینی هستند که نقش مهمی در نقل و انتقالات اندوزومی دارند و اختلال در عملکرد رترومری با تعداد زیادی از اختلالات نورولوژیکی همراه می‌باشد. بنابراین، هدف این مطالعه، مقایسه بیان ژن SNX2 به عنوان بخشی از کمپلکس رترومری در بیماران MS با افراد سالم بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد–شاهدی، ۵۰ نمونه مالتیپل اسکلروزیس(MS) و ۵۰ کنترل سالم وارد شدند. بعد از تایید بیماری، ۳ سی‌سی خون محیطی از تمام افراد مورد مطالعه گرفته شد. RNA تام استخراج شد و DNA مکمل (cDNA) سنتز شد. بیان نسبی ژن با استفاده از روش کمی real-time RT PCR (qRT-PCR) به دست آمد و به وسیله روش $\mathbf{2}^{-\Delta\Delta ct}$ ارزیابی شد.

یافته‌ها: بیان ژن SNX2 در بیماران MS در مقایسه با افراد کنترل سالم پایین‌تر بود و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان داد($p<۰/۰۵$).

نتیجه گیری: مطالعه ما نشان داد که بیان SNX2 در بیماری مالتیپل اسکلروزیس پایین‌تر است. با توجه به نقش عملکردی که SNX2 به عنوان یک پروتئین درگیر در فرآیند ترافیک سلولی دارد، ممکن است بر روی عملکرد رسپتورهای سطح سلولی یا هدف‌گیری داروها تأثیر داشته باشد. بنابراین مطالعات تکمیلی برای مشخص شدن مکانیسم دقیق عملکرد ژن در نقل و انتقالات سلولی باید انجام شود.

واژگان کلیدی: SNX2، مالتیپل اسکلروزیس، RRMS، Real-time PCR

* **نویسنده مسئول:** ایران، شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده علوم پایه، گروه ژنتیک

Email: s.reiisi@sci.sku.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:10 +0330 on Monday September 25th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:10 +0330 on Monday September 25th 2017

مقدمه

بیماری مالتیپل اسکلروزیس(MS)، یک اختلال التهابی مزمن دمیلینه کننده می‌باشد که سیستم عصبی مرکزی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بیماری با مشخصات کاهش میلین، التهاب مزمن، آسیب آکسونی و الیگودندروسیت‌ها و نقص نورولوژیکی پیش‌رونده شناخته می‌شود و در آن علاوه بر سیستم عصبی، سیستم ایمنی نیز درگیر می‌باشد(۱). تغییرات بیماری‌زایی عمومی اغلب به صورت تخریب میلین، ناکافی بودن بازسازی میلین در این محل‌ها، آسیب آکسون‌ها و تشکیل پلاک خود را نشان می‌دهد(۲). در بین انواع تقسیم بندی‌های بیماری MS، نوع عود کننده-بهبود یابنده(RRMS) شایع‌ترین نوع بیماری بوده و به وسیله رخداد دوره‌ای علایم بالینی مشخص می‌شود و در بیش‌تر موارد به سمت نوع پیش‌رونده ثانویه(SPMS) گسترش می‌یابد. علایم بالینی در RRMS توسط فرآیندهای ایمنولوژیکی ایجاد می‌شوند که در آن لوکوسیت‌های نفوذ یافته و میکروگلیا فعال شده درگیر می‌شوند، در حالی‌که پیشرفت بیماری در SPMS عمدتا به وسیله تحلیل عصبی و دمیلیناسیون گسترده کورتیکال که نتیجه آن آتروفی مغزی است، مشخص می‌شود(۳). با این وجود هنوز اتیولوژی بیماری ناشناخته است و حدس زده می‌شود استعداد ژنتیکی و فاکتورهای محیطی هر دو در ایجاد آن دخالت دارند و برابر با اطلاعات موجود، بیماری در افراد با استعداد ژنتیکی، به وجود آمده و احتمالا" به محرک‌های محیطی نیاز دارد(۸، ۹). از طرف دیگر مشخص شده است که حمل و نقل پروتئینی درون سلولی یک نقش مهم در عملکرد و حیات نورون‌ها بازی می‌کند. به صورتی که تاخوردگی اشتباه پروتئین‌ها یک عارضه معمول در بسیاری از بیماری‌های تحلیل عصبی می‌باشد و تجمع و عدم پاک‌سازی این پروتئین‌های با تاخوردگی نادرست به حالت پاتولوژیک بیماری نسبت داده می‌شود(۴). بنابراین در این‌جا نقش پروتئین‌هایی که در نقل و انتقال این تجمعات احتمالا" سمی ضروری هستند، مانند پروتئین‌های SNX (sorting nexin) قابل توجه می‌باشد.

پروتئین‌های SNX یک گروه از پروتئین‌های سیتوپلاسمی و درون غشائی می‌باشند که به عنوان جایگاه اتصال فسفواینوزیتید عمل می‌کنند. این اتصال سبب می‌شود پروتئین‌های SNX در بخش‌های مختلف درون سلولی مانند اندوزم‌های اولیه و ثانویه متمرکز شوند(۵، ۶). خانواده پروتئینی SNX شامل ۳۳ پروتئین با عملکردها و فعالیت‌های متنوع بوده، که به صورت اختصاصی یا عمومی در تنظیم حمل و نقل سلولی، شامل نقل و انتقالات اندوزومی رسپتورهای غشایی و ترانسپورترها نقش دارند(۷). اولین پروتئین شناخته‌شده از این خانواده SNX1 می‌باشد؛ که ابتدا به عنوان یک پروتئین اتصالی برای رسپتور فاکتور رشد اپیدرمی توصیف شده است و مشخص شده است که با افزایش بیان سبب تجزیه شدن رسپتور می‌شود(۸). پروتئین‌های SNX2 در بسته‌بندی رسپتورهای مانوز ۶-فسفات از اندوزوم به شبکه گلژی نقش دارند. این پروتئین هم‌چنین در مسیر سیگنالینگ رسپتور TGF-β دارای نقش عملکردی هستند (۱۰،۹). SNX2 تا حدود ۶۳ درصد از نظر توالی با SNX1 همپوشانی داشته و یک کمپلکس هترومری را با SNX1 و SNX4 تشکیل می‌دهد. از طرف دیگر پروتئین‌های SNX1، SNX2، SNX5 و SNX6 با یکدیگر کمپلکس رترومری را در پستانداران شکل می‌دهند(۱۱، ۱۲). شواهد مختلفی نشان داده‌اند که رترومرها یک هدایت کننده اصلی در دسته‌بندی اندوزومی و حمل و نقل سلولی هستند. عملکرد سیناپسی به شدت به نقل و انتقالات اندوزومی وابسته بوده، به صورتی که این مورد به آزادسازی نوروترانسمیترهای پیش سیناپسی نسبت داده می‌شود، فرآیندی که برای تغییرات و عملکرد نورونی بسیار ضروری می‌باشد. بنابراین چنبن مطالعاتی می‌تواند مشخص کند که چرا سیستم عصبی به نقص ژنتیکی و محیطی رترومرها حساس می‌باشد. نقش کمپلکس رترومری در تعدادی از بیماری‌های تحلیل برنده عصبی مانند آلزایمر و پارکینسون تا حدود زیادی مشخص شده است(۴، ۱۳). اما هنوز به طور کامل نقش هر کدام از اجزای این کمپلکس مشخص نشده است. در مورد سایر اختلالات سیستم عصبی و از جمله بیماری MS نیز هیچ‌گونه مطالعه‌ای تاکنون انجام

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:10 +0330 on Monday September 25th 2017

نشده است و پروفایل بیانی پروتئین‌های SNX در آن‌ها مشخص نشده است. بنابراین هدف این مطالعه بررسی میزان بیان ژن SNX2 به عنوان یکی از اجزای کمپلکسی درگیر در رترومرها در بیماری MS می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه گیری: مطالعه حاضر یک مطالعه توصیفی تحلیلی و مورد شاهدی می‌باشد که بر روی ۱۰۰ نمونه شامل ۵۰ فرد بیمار MS و ۵۰ فرد سالم انجام شد. معیار ورود به مطالعه افراد بیمار، بر مبنای تشخیص بیماری بر اساس معیارهای مک دونالد (McDonald) (۱۴) و تأیید دو نفر پزشک متخصص مغز و اعصاب می‌باشد. هم‌چنین افرادی که قبل از تشخیص بیماری MS دارای معیارهای تشخیص هر نوع بیماری تحلیل برنده‌ی عصبی بوده‌اند از مطالعه خارج می‌شوند. در این مطالعه افرادی که هیچ‌گونه بیماری تحلیل عصبی نداشتند به عنوان افراد گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌گیری از افراد بیمار و کنترل با روش آسان به عمل آمد، در کنار نمونه‌گیری پرسش‌نامه‌ای حاوی اطلاعات دموگرافیک و سابقه پزشکی برای هر بیمار تکمیل گردید و از کلیه بیماران یا والدین افراد زیر سن قانونی رضایت‌نامه کتبی اخذ شد. نمونه‌های خون هر بیمار در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA (نیم مولار) گرفته شد. و سپس برای آزمایشات مولکولی به آزمایشگاه منتقل شدند.

استخراج RNA و سنتز cDNA

RNA کل سلولی با استفاده از کیت استخراج MN (NucleoSpin RNA Blood-Germany) و بر اساس دستورالعمل کیت انجام شد. برای بررسی کیفیت و کمیت RNAهای استخراج شده از دستگاه نانودراپ استفاده شد(Nanodrop 2000, Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA). RNAهای به دست آمده تا انجام مراحل بعدی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در مرحله بعد DNA مکمل (cDNA) با استفاده از کیت سنتز (Takara, Clontech) تکثیر شد. دستورالعمل کیت شامل دو مرحله بود که مرحله اول اضافه کردن پرایمرهای Random Hexamer و oligo-dt و آنزیم ریورس ترانسکریپتاز (Prime Script RT) و مرحله دوم انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه که به مدت ۵ ثانیه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد ادامه پیدا می‌کرد.

بررسی بیان ژن با qReal time PCR

طراحی پرایمر برای ژن‌های بتا اکتین و SNX2 طبق توالی به دست آمده از پایگاه Ensemble توسط نرم افزار Oligo V.7.0 انجام شد(جدول ۱). بررسی بیان ژن با روش qRT-PCR به وسیله دستگاه Rotor-gene 6000 (Qiagen, Hildn, Germany) انجام شد. واکنش برای ژن SNX2 و ژن رفرنس بتا اکتین در حجم ۲۰ میکرولیتر به مقدارهای: SYBR premix Ex taqII (Takara) به مقدار ۱۰ میکرولیتر، پرایمرهای پیش‌رو و معکوس (10pM) هر کدام به مقدار ۰/۲ میکرولیتر، cDNA ۲ میکرولیتر که با آب فاقد نوکلئاز به حجم مورد نظر رسید. دمای انجام واکنش در دستگاه به صورت زیر می‌باشد:

دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۴۰ سیکل واکنش تکثیر شامل ۱۵ ثانیه دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ ثانیه دمای اتصال پرایمرها در ۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای طویل سازی قطعات ۲۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد بوده است. مرحله ذوب برای محصولات در دمای ۷۲-۹۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. برای تجزیه تحلیل داده‌های حاصل از واکنش، از روش $\mathbf{2}^{-\Delta\Delta ct}$ استفاده شد و سپس الگوی بیانی توسط آنالیزهای آماری بررسی شد.

بررسی ارتباط سن و میزان ناتوانی با میزان بیان ژن SNX2

برای بررسی ارتباط میان میزان بیان ژنی و سن افراد بیمار، با توجه به میانگین سنی در افراد، به دو گروه زیر ۳۵ سال و بالای ۳۵ سال تقسیم شدند. سپس میزان بیان ژن در هر دو گروه سنی با یکدیگر مقایسه شد تا میزان ارتباط بیان ژن با سن افراد مشخص شود. هم‌چنین فاکتور مورد

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:10 +0330 on Monday September 25th 2017

توجه دیگر در این مطالعه درجه ناتوانی بود، که به وسیله معیار Kurtzke، حالت ناتوانی گسترده (EDSS) ارزیابی شد(۱۵). مطابق با این معیار سه درجه از ناتوانی در نظر گرفته می‌شود که خفیف با توانایی نرمال در راه رفتن (EDSS=0-4)، متوسط با توانایی متوسط در راه رفتن و نیاز به کمک در راه رفتن (EDSS=4.5-5.5) و شدید با عدم توانایی در راه رفتن و محدود شدن به رختخواب (EDSS=6-9.5) می‌باشند. بعد از مشخص شدن درجه ناتوانی در افراد بیمار، میزان بیان ژن با میزان ناتوانی مورد ارزیابی قرار گرفت.

آنالیز آماری

جهت بررسی آماری داده‌ها، از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ (SPSS v.22 Inc., Chicago,IL) استفاده شد. برای تعیین معنی‌دار بودن میزان بیان ژن‌ها در نمونه‌های بیمار و سالم و بررسی گروه‌های سنی از آزمون آماری t-test استفاده شد. سطح معنی‌داری برای محاسبات آماری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار GraphPad Prism 7 استفاده شد.

جدول ۱. توالی های پرایمرهای استفاده شده در مطالعه

نام ژن	توالی '3-'5	اندازه محصول
بتا اکتین	F: AGAGCTACGAGCTGCCTGAC R: AGCACTGTGTTGGCGTACAG	۱۸۴
SNX2	F: TGGCAGAAATGGGAAGATGCTC R: TGCACTTTCGCCTCCCACTC	۱۳۴

یافته‌ها

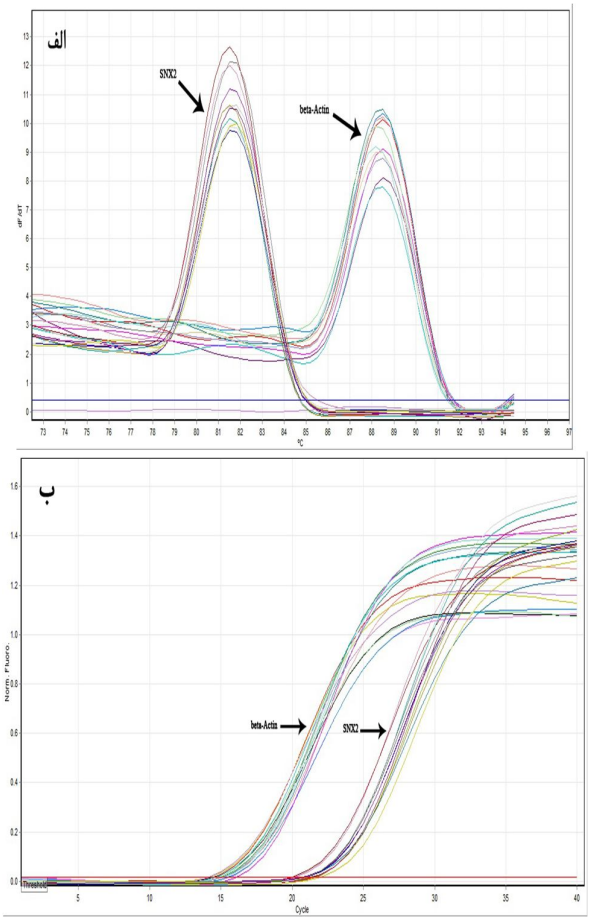
در این مطالعه ۵۰ فرد سالم با میانگین سنی ۳۶/۲۴±۲/۸۱ و ۵۰ فرد مبتلا به MS با میانگین سنی ۳۳/۶۸±۱/۱ وارد شدند. بیماران MS همه از نوع RRMS بودند و بیماری آن‌ها توسط پزشک متخصص، آزمایشات بالینی و MRI تایید شده بود. برای بررسی بیان ژن از روش qRT-PCR استفاده شد که منحنی ذوب ژن رفرنس (بتا اکتین) و ژن اختصاصی(SNX2) به صورت تک قله به دست آمد(شکل ۱ الف). پس از به دست آوردن اطمینان از اختصاصی بودن محصول و بهینه بودن شرایط واکنش، واکنش‌های Real time RT-PCR برای تمامی نمونه‌های سالم و بیمار انجام شد. بررسی منحنی تکثیر نشان دهنده تکثیر نمایی قطعه‌ی مورد نظر با منحنی ذوب یکسان برای تمام نمونه‌ها بود (شکل ۱ ب).

در مقایسه میزان میانگین نسبی ژن SNX2 در نمونه‌های MS نسبت به افراد سالم، آزمون t نشان داد که میانگین بیان نسبی ژن SNX2 در افراد بیمار نسبت به افراد سالم پایین‌تر می‌باشد و اختلاف بسیار معناداری بین آن‌ها وجود دارد($p=0.01$) (شکل ۲). در بررسی ارتباط بین سن و میزان بیان ژن SNX2 افراد بیمار با توجه به میانگین سنی به دست آمده به دو گروه زیر ۳۵ سال و زیر ۳۵ تقسیم‌بندی شدند. با توجه به داده‌های به دست آمده در افراد زیر ۳۵ سال کاهش بیان ژن قابل مشاهده بود، اما از نظر آماری اختلاف معناداری میان دو گروه سنی زیر ۳۵ سال و بالای ۳۵ سال مشاهده نشد ($p= 0.206$) (شکل ۳ الف). بنابراین نمی‌توان در مورد ارتباط میان سن و بیان ژن مورد نظر در افراد زیر ۳۵ سال با قطعیت صحبت کرد. برای مشخص کردن همراهی بین بیان ژن و میزان ناتوانی، افراد بیمار به دوگروه تقسیم شدند: گروه اول EDSS برابر با ۰-۵/۵ (ناتوانی ملایم/ متوسط) که در این گروه افراد دارای عدم ناتوانی برای راه رفتن یا ناتوانی حداقل هستند و گروه دوم EDSS برابر با ۶-۱۰ (ناتوانی شدید) که در آن افراد دارای ناتوانی شدید در راه رفتن بوده به صورتی که به کمک برای راه رفتن نیاز دارند یا محدود به رختخواب می‌شوند. در بررسی ارتباط میزان بیان و EDSS مشخص شد که میزان بیان ژن در حالت EDSS برابر ۶-۱۰ نسبت به EDSS

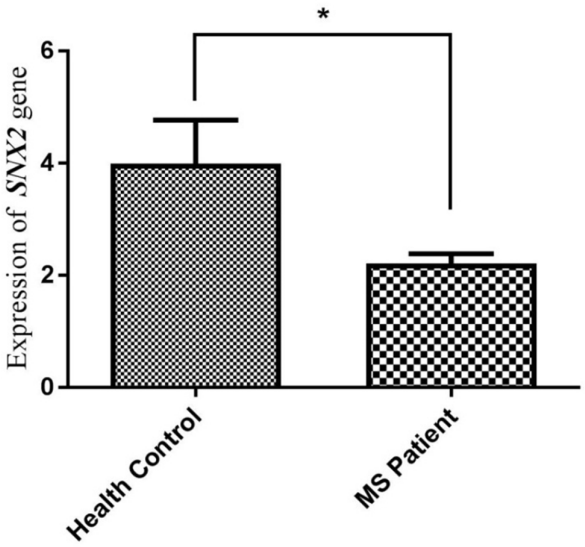
www.SID.ir

Archive of SID

برابر ۰-۵/۵ کمتر می‌باشد و ارتباط معناداری بین میزان بیان ژن و شدت ناتوانی در افراد بیمار مشاهده شد($p=0.037$) (شکل ۳ ب).



شکل ۱- الف)نمودارهای ذوب ژن های بتا اکتین و SNX2.
ب) نمودارهای تکثیر ژن های بتا اکتین و SNX2

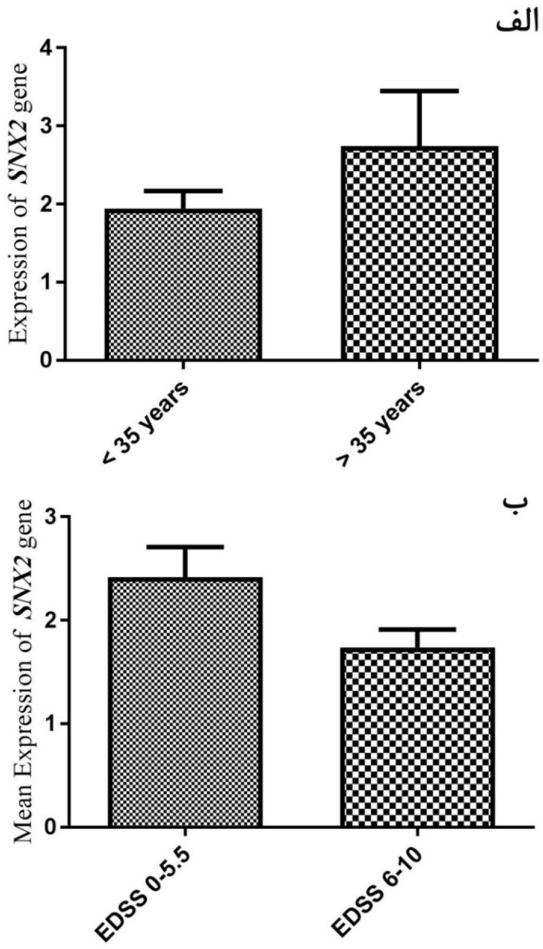


شکل ۲. نمودار مقایسه میانگین میران بیان ژن SNX2 در نمونه های سالم و بیمار

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:10 +0330 on Monday September 25th 2017

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳. نمودار ستونی مقایسه میزان بیان ژن SNX2
الف) گروه‌های سنی زیر ۳۵ و بالای ۳۵ سال.
ب) گروه‌های EDSS ملایم و شدید

بحث

تحقیقات جدید در زمینه مطالعات پاتوفیزیولوژیک بیماری‌های تحلیل برنده عصبی از مطالعه پروتئین‌های ایجاد کننده بیماری به سمت تعیین مسیرها و کمپلکس‌های پروتئینی که ممکن است به پاتوژنزیس بیماری نسبت داده شوند، تغییر پیدا کرده است. به طور جالب توجهی، اغلب بیماری‌های تحلیل عصبی ارتباط نزدیکی با نقص کمپلکس رترومری دارند، که این نقص می‌تواند به صورت کاهش بیان یا ایجاد موتاسیون رخ دهد. کاهش میزان رترومرها در چندین بخش از مغز بیماران با آلزایمر یا پارکینسون دیده شده است که در اینجا حدس زده می‌شود کاهش فراوانی رترومرها ممکن است با شرایطی پاتولوژیک بیماری مرتبط باشد(۱۶- ۱۸). بنابراین پروتئین‌های رترومری می‌توانند به عنوان هدف بالقوه برای درمان بیماری‌های عصبی باشند.

مطالعه حاضر اثبات کرد که میزان بیان ژن SNX2 در بیماران MS در مقایسه با افراد سالم به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافته است. پروتئین SNX2 یکی از پروتئین‌های کمپلکس رترومری می‌باشد. بنابراین می‌توان این گونه توجیه کرد که کاهش در یکی از پروتئین‌های

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:10 +0330 on Monday September 25th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:10 +0330 on Monday September 25th 2017

کمپلکس سبب می‌شود نقل و انتقالات درون سلولی و سیستم اندوزومی تحت تاثیر قرار بگیرد.

بر اساس شواهد تجربی در مطالعات مختلف بر روی سیستم رترومی مشخص شده است که در بیماری‌های تحلیل برنده عصبی سه حالت پاتولوژیک در اثر نقص در سیستم رترومری ممکن است ایجاد شود: در حالت اول، عدم عملکرد رترومری می‌تواند سبب شود محموله‌ها یا موادی که توسط اندوزوم‌ها منتقل می‌شوند، به مدت طولانی در اندوزوم باقی بمانند و این حالت نسبت به شرایط نرمال زمان بیش‌تری می‌باشد. ماندگاری طولانی در اندوزوم سبب می‌شود که محصولات موجود در اندوزوم به قطعاتی که از نظر نورولوژیکی سمی هستند، پردازش شوند(۱۹). در حالت دوم، در اثر عدم عملکرد صحیح کمپلکس رترومری، نقص در چرخه اندوزومی ایجاد می‌شود که انتقال از اندوزوم به ترانس گلژی و بالعکس می‌باشد. این حاالت سبب می‌شود که انتقال رسپتورهای سطح سلولی به غشاء کاهش پیدا کند. اکثر این رسپتورها برای عملکرد سیناپسی و سلامت مغزی دارای اهمیت هستند(۲۰). حالت سوم، در اثر نقص در انتقال پروتئازها از اندوزوم به لیزوزوم ایجاد می‌شود. در شرایط نرمال هنگامی که پروتئاز از رسپتور جدا می‌شود و در اندوزوم رها می‌شود، به سمت لیزوزوم مهاجرت می‌کند. بعد از آن سیستم رترومری رسپتور جدا شده از محموله را به شبگه ترانس گلژی بر می‌گرداند و به این ترتیب رسپتور برای دور بعدی عملکرد فعال می‌شود. در اثر عدم عملکرد سیستم رترومری، پروتئازها به لیزوزوم منتقل نمی‌شوند و در نتیجه حالت پاتولوژیک برای سلول ایجاد می‌کند(۲۱).

اولین مطالعات بر روی نقش رترومرها مربط به عملکرد و نقص آن‌ها در بیماری آلزایمر می‌باشد(۲۲). در این مطالعه و چندین مطالعه بعد از آن مشخص شد که افزایش سطح شناسایی محموله توسط سیستم رترومری بر روی میزان عملکرد نقل و انتقالی آن تاثیر می‌گذارد(۲۳). در مطالعه دیگری نیز نشان داده شد که خاموش کردن ژن SNX2 با روش siRNA و در نتیجه کاهش بیان آن در سبب می‌شود به طور قابل توجهی حساسیت سلول‌های سرطانی به دارو تغییر کند. در این مطالعه مشخص شد که تغییر در میزان SNX2 بر روی رسپتور فاکتور رشد اپیدرمی در سلول‌های سرطان ریه و سرطان معده تاثیر می‌گذارد(۲۴). در مطالعه دیگری نیز توسط Naguyen و همکاران مشخص شد که پروتئین SNX1 در سرطان کولون نقش قابل توجهی دارد و باعث افزایش تومورزایی از طریق تاثیر در سیگنالینگ با واسطه اندوزوم‌ها می‌شود(۲۵). نقش رترومرها در سندروم داون نیز تا حدی مشخص شده است. در این سندروم یک فاکتور رونویسی به نام C/EBPβ بیان SNX27 را کنترل می‌کند. در اثر افزایش بیان mir-155 بر روی کروموزوم ۲۱ در این سندروم، فاکتور رونویسی مهار می‌شود. در نتیجه بیان SNX27 نیز در سندروم کاهش می‌یابد، بیان کاهش یافته SNX27 بر روی چرخه رسپتوری گلوتامات به سمت غشاء پلاسمایی در هیپوکامپ تاثیر می‌گذارد. این حالت نوروآناتومی غیر نرمالی را ایجاد می‌کند که منجر به نقص سیناپسی و اختلال در یادگیری و حافظه می‌شود(۲۶). بیماری پاراپلژیا اسپاستیک ارثی(HSP)، اختلال دیگری است که در رابطه با رترومرها شناسایی شده است. HSP به وسیله نقص ژنتیکی ایجاد می‌شود و بر روی نورون‌های حرکتی فوقانی اثر می‌گذارد و با اسپاسم اندام‌های تحتانی و ضعف مشخص می‌شود. با وجود این که موتاسیون‌های بسیاری در ایجاد بیماری نقش دارند اما بیش‌تر آن‌ها بر روی انتقالات درون سلولی تاثیر می‌گذارند(۲۷، ۲۸). اختلال دیگری که همراه با سیستم رترومری شناسایی شده است لیپوفوشینوز سروئید نورونی(NCL) می‌باشد. NCL یک اختلال تحلیل برنده عصبی می‌باشد که در دوره جوانی شروع می‌شود و بخشی از بیماری‌های ذخیره‌ای لیزوزومی می‌باشد. بیماری در اثر موتاسیون در ژن کد کننده کاتپسین D و سیستم نقل و انتقالی آن ایجاد می‌شود. اما در مورد سایر بیماری‌های سیستم عصبی و از جمله MS و ارتباط آن‌ها با کمپلکس رترومری اطلاعاتی در دسترس نمی‌باشد(۲۹، ۳۰).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:10 +0330 on Monday September 25th 2017

نتیجه گیری

در مجموع مطالعه حاصر نشان داد که میزان بیان ژن SNX2 در افراد بیمار MS نسبت به افراد سالم کاهش بیان مشخصی داشته و بنابراین می‌تواند کمپلکس رترومری در نقل و انتقالات درون سلولی را تحت تاثیر قرار دهد و از آن‌جایی که این نقل و انتقالات می‌تواند بر روی حساسیت دارویی، انتقال رسپتوری و تجمع توکسین‌های مضر برای سیستم عصبی موثر باشد بنابراین به نظر می‌رسد انجام مطالعات تکمیلی جهت تعیین مکانیسم دقیق آن در سایر بیماری‌های نورولوژیک و از جمله MS ضروری باشد.

تشکر و قدردانی

مراتب سپاسگزاری خود را از تمامی افرادی که در انجام این مطالعه ما را یاری دادند به جا می‌آوریم، به خصوص بیمارانی که در مرحله نمونه‌گیری با ما همکاری نمودند. این مقاله مربوط به نتایج پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول می‌باشد.

منابع

1.Trapp BD, Nave K-A. Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder? Annu Rev Neurosci. 2008;31:247-69.

2.Piaton G, Williams A, Seilhean D, Lubetzki C. Remyelination in multiple sclerosis. Progress in brain research. 2009;175:453-64.

3.Lassmann H, Van Horssen J, Mahad D. Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. Nature Reviews Neurology. 2012;8(11):647-56.

4.Wang X, Huang T, Bu G, Xu H. Dysregulation of protein trafficking in neurodegeneration. Molecular neurodegeneration. 2014;9(1):31.

5.van Weering JR, Verkade P, Cullen PJ, editors. SNX–BAR proteins in phosphoinositide-mediated, tubular-based endosomal sorting. Seminars in cell & developmental biology; 2010: Elsevier.

6.Teasdale RD, Collins BM. Insights into the PX) phox-homology) domain and SNX (sorting nexin) protein families: structures, functions and roles in disease. Biochemical Journal. 2012;441(1):39-59.

7.Worby CA, Dixon JE. Sorting out the cellular functions of sorting nexins. Nature reviews Molecular cell biology. 2002;3(12):919-31.

8.TEASDALE RD, David L, HOUGHTON F, KARLSSON L, GLEESON PA. A large family of endosome-localized proteins related to sorting nexin 1. Biochemical Journal. 2001;358(1):7-16.

9.Parks WT, Frank DB, Huff C, Haft CR, Martin J, Meng X, et al. Sorting nexin 6, a novel SNX, interacts with the transforming growth factor-β family of receptor serine-threonine kinases. Journal of Biological Chemistry. 2001;276(22):19332-9.

10.Wilkes MC, Repellin CE, Kang J-H, Andrianifahanana M, Yin X ,Leof EB. Sorting nexin 9 differentiates ligand-activated Smad3 from Smad2 for nuclear import and transforming growth factor β signaling. Molecular biology of the cell. 2015;26(21):3879-91.

11.Haft CR, de la Luz Sierra M, Barr VA, Haft DH, Taylor SI. Identification of a family of sorting nexin molecules and characterization of their association with receptors. Molecular and cellular biology. 1998;18(12):7278-87.

12.Griffin CT, Trejo J, Magnuson T. Genetic evidence for a mammalian retromer complex containing sorting nexins 1 and 2. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2005;102(42):15173-7.

13.Li C, Shah SZA, Zhao D, Yang L. Role of the Retromer Complex in Neurodegenerative Diseases. Frontiers in aging neuroscience. 2016;8.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:10 +0330 on Monday September 25th 2017

complex in Alzheimer's disease. Annals of neurology. 2005;58(6):909-19.

23.Garber K. Potential Alzheimer's drug spurs protein recycling. Science. 2014;344(6182):351.-

24.Ono M, Ogi S, Yamamoto C, Fujita H, Kuwano M. Sorting nexin 2 (SNX ۲

controls drug sensitivity to molecular targeted anticancer agents through membrane trafficking of c-Met protein in cancer cell. AACR; 2012.

25.Nguyen LN, Holdren MS, Nguyen AP, Furuya MH, Bianchini M, Levy E, et al. Sorting nexin 1 down-regulation promotes colon tumorigenesis. Clinical cancer research. 2006;12(23):6952-9.

26.Wang X, Zhao Y, Zhang X, Badie H, Zhou Y, Mu Y, et al. Loss of sorting nexin 27 contributes to excitatory synaptic dysfunction by modulating glutamate receptor recycling in Down's syndrome. Nature medicine. 2013;19(4):473-80.

27.Blackstone C, O'kane CJ, Reid E. Hereditary spastic paraplegias: membrane traffic and the motor pathway. Nature Reviews Neuroscience. 2011;12(1):31-42.

28.Valdmanis PN, Meijer IA, Reynolds A, Lei A, MacLeod P, Schlesinger D, et al. Mutations in the KIAA0196 gene at the SPG8 locus cause hereditary spastic paraplegia. The American Journal of Human Genetics. 2007;80(1):152-61.

29.Jalanko A, Braulke T. Neuronal ceroid lipofuscinoses. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. 2009;1793(4):697-709.

30.Mamo A, Jules F, Dumaresq-Doiron K, Costantino S, Lefrancois S. The role of ceroid lipofuscinosis neuronal protein 5 (CLN5) in endosomal sorting. Molecular and cellular biology. 2012;32(10.۶۶-۱۸۵۵:)

14.Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. Annals of neurology. 2011;69(2):292-302.

15.Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis an expanded disability status scale (EDSS). Neurology. 1983;33(11):1444.-

16.Fu R, Shen Q, Xu P, Luo JJ, Tang Y. Phagocytosis of microglia in the central nervous system diseases. Molecular neurobiology. 2014;49(3):1422-34.

17.Small SA, Petsko GA. Retromer in Alzheimer disease, Parkinson disease and other neurological disorders. Nature Reviews Neuroscience. 2015;16(3):126-32.

18.Follett J, Norwood SJ, Hamilton NA, Mohan M, Kovtun O, Tay S, et al. The Vps35 D620N mutation linked to Parkinson's disease disrupts the cargo sorting function of retromer. Traffic. 2014;15(2):230-44.

19.Lucin KM, O'Brien CE, Bieri G, Czirr E, Mosher KI, Abbey RJ, et al. Microglial beclin 1 regulates retromer trafficking and phagocytosis and is impaired in Alzheimer's disease. Neuron. 2013;79(5):873-86.

20.Kochergin I, Zakharova M. The role of autophagy in neurodegenerative diseases. Neurochemical Journal. 2016;10(1):7-18.

21.Vardarajan BN, Bruesegem SY, Harbour ME, George-Hyslop PS, Seaman MN, Farrer LA. Identification of Alzheimer disease-associated variants in genes that regulate retromer function. Neurobiology of aging. 2012;33(9):2231. e15-. e30.

22.Small SA, Kent K, Pierce A, Leung C, Kang MS, Okada H, et al. Model-guided microarray implicates the retromer

www.SID.ir