آنالیز شبکه برهم کنش پروتئین – پروتئین سلول‌های فیبروبلاست انسانی تیمار شده با الکل اتانول

مونا زمانیان عضدی [۱](Ph.D Student)، مصطفی رضایی طاویرانی [۲*](Ph.D)، مریم پیوندی [۲](M.D)، اکرم صفایی [۱](Ph.D Student) ، مجید رضایی طاویرانی [۳](M.D)، محمد محبوبی [۴](Ph.D)، فرشاد اخوتیان [۵](Ph.D)، حسینعلی صفاخواه [۶](M.Sc)

۱- دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، ایران، تهران

۴- دانشکده علوم پزشکی آبادان، آبادان، ایران

۵- مرکز تحقیقات فیزیوتراپی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۶ - مرکز تحقیقات و گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که اتانول بیان پروتئین‌ها متعددی را در سلول‌های فیبروبلاست تغییر می‌دهد. تعدادی از این پروتئین‌ها از فاکتورهای مهم در سرطان‌زایی هستند. بنابراین، آنالیز نقش عمل‌کردی و برهم‌کنش این دسته از پروتئین‌ها به منظور شناسایی مکانیسم‌های عمل‌کردی و سرطان‌زایی الکل دارای اهمیت است.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape و الگوریتم‌های وابسته، شبکه برهم‌کنش پروتئینی، شش پروتئین شناسایی شده در پروتئوم سلول‌های فیبروبلاست (HFFF2) تیمار شده با الکل اتانول که تغییرات کاهشی محسوسی داشته‌اند آنالیز شد.

یافته‌ها: با توجه به بررسی‌های به‌دست آمده شبکه برهم‌کنش پروتئینی به‌دست آمده شامل ۷۵۶ گره و ۱۱۶۶ اتصال است. نتایج نشان می‌دهند که Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 با Degree=۵۲۸ و Betweenness centrality=۰/۷۴ پروتئینی کلیدی محسوب می‌شود و الکل سبب اختلال در بیان آن می‌شود. هم‌چنین بر اساس مطالعه کمپلکس‌های پروتئینی، این پروتئین حضور بارزی در کمپلکس‌های مختلف دارد. از سوی دیگر نتایج آنالیز نرم‌افزار DAVID نشان می‌دهد که این پروتئین‌ها در تنظیم بخش عظیمی از فرایندهای درون سلولی مداخله می‌نماید.

نتیجه‌گیری: شش پروتئین‌هایی که میزان بیان آن‌ها تحت تاثیر الکل تغییر یافته است علاوه بر آن که می‌توانند خطر ابتلا به سرطان افزایش دهند، فرایندهای درون سلولی متنوعی را نیز مختل می‌کنند که Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 در این میان مهم‌ترین پروتئین است.

واژه‌های کلیدی: اتانول، فیبروبلاست‌ها، نقشه برهم‌کنش پروتئینی، هستی‌شناسی ژنی

مقدمه

اتانول از جمله ترکیبات آلی به شمار می‌رود که مصرف آن مخاطراتی را برای سلامت انسان به همراه دارد [۱]. استفاده از آن می‌تواند موجب بروز بسیاری از بیماری‌ها شود. از آن

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱-۲۲۷۱۴۲۴۸

Email: tavirany@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۸/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۸

جمله می‌توان به انواع سرطان، اختلالات روحی-روانی و مشکلات گوارشی اشاره نمود [۳،۲]. مصرف این ترکیب موجب به‌وجود آمدن یکسری متابولیت‌های سمی در بدن می‌شود. تحقیقات مولکولی نشان داده است که اتانول در دوزهای مشخصی باعث تغییرات ساختاری برخی از کروموزم‌ها می‌شود که این امر می‌تواند ناشی از فعال شدن یکسری مسیرهای زیان‌آور در سلول باشد [۳]. با تغییرات گسترده‌ای که اتانول در فرایندهای درون سلولی ایجاد می‌کند، زمینه‌سازی لازم برای آسیب‌رسانی و تشدید این دسته از آسیب‌ها را فراهم می‌نماید. بر اساس مطالعات اخیر دوزهای مشخصی از این الکل موجب کاهش چشمگیر جمعیت سلول‌های فیبروبلاست شده است. مطالعات پروتئومیکی اطلاعات مهمی را در ارتباط با تغییر بیان پروتئین‌ها فراهم می‌کند [۴]. اطلاعات به‌دست آمده از مطالعه پروتئومیکی سلول‌های فیبروبلاست تیمار شده با اتانول نشان‌دهنده تغییر گسترده در پروتئوم این سلول‌ها می‌باشد [۵،۶]. یکی از زمینه‌های مطالعه پروتئوم، بررسی‌های بیوانفورماتیکی است که شامل آنالیز شبکه برهم‌کنش پروتئینی است. مطالعات شبکه برهم‌کنش پروتئینی از آن لحاظ دارای اهمیت است که اطلاعات بیش‌تری را در رابطه با عمل‌کرد سیستماتیک پروتئین‌ها ارائه می‌دهد [۷]. بدین ترتیب که فنوتیپ یک بیماری ناشی از عمل‌کرد و ارتباط این پروتئین‌ها با هم دیگر است و مطالعه هر کدام از پروتئین‌ها به‌صورت مجزا برای شناخت مکانیسم بیماری کافی نیست [۸]. از جمله شاخص‌های مورد بررسی برای یک شبکه، تعیین ژن‌ها و کمپلکس‌های کلیدی و هستی‌شناسی ژن‌های مهم ایجاد فنوتیپ مورد نظر با استفاده از الگوریتم‌های ویژه است. بررسی ارتباط نزدیک بین پروتئین‌ها را می‌توان با توجه به هستی‌شناسی ژنی، توالی‌ها و ساختار آن‌ها انجام داد. اطلاعاتی که مطالعات هستی‌شناسی ارائه می‌دهند شامل شناسایی سه گزینه عمل‌کرد ملکولی Molecular Function (MF) مانند فعالیت کاتالیزوری که پروتئین در سطح سلولی انجام می‌دهد، فرایندهای بیولوژیک Biological Processes (BP) که مجموعه‌ای از رخدادهای انجام گرفته توسط یک یا چند عملگر ملکولی در کنار هم است و جایگاه سلولی Cellular Component (CC) که نشان‌دهنده مکان‌های در سطوح ساختارهای تحت سلولی و کمپلکس‌های ماکروملکولی است، می‌باشد. آنالیز شبکه برهم‌کنش پروتئین - پروتئین توسط همکاران و مجری این پروژه برای موارد مختلفی انجام و نتایج آن انتشار یافته است [۱۰،۹]. در گزارشی مسیر مشترک ناشی از آسیب الکل و ابتلا به سرطان از طریق آنالیزهای پروتئومیکی و بیوانفورماتیکی به چالش کشیده شده است. مطالب ارائه شده در این مقاله در تبیین اهداف نوشتار کنونی بسیار مفید می‌باشند [۱۱]. با توجه به اهمیت آنالیزهای بیوانفورماتیکی و پروتئومیکی در شفاف‌سازی تغییرات ناشی از اعمال شرایط محیطی و بروز تغییرات ژنتیکی، در این تحقیق به منظور کسب دانش لازم در خصوص مکانیسم‌های مولکولی تغییریافته تحت تاثیر مصرف الکل، تعامل تعدادی از پروتئین‌های شناسایی شده در ارتباط با مصرف الکل در یک شبکه برهمکنشی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

کد (Uniprot Accession number) پروتئین‌های شناسایی شده (این پروتئین‌ها حاصل انجام پروژه‌ای پروتئومیکی توسط همین گروه بوده است که بخش‌هایی از نتایج آن قبلاً در قالب چند مقاله گزارش گردیده است) [۱۱]، از پایگاه داده (http://www.uniprot.org) استخراج گردید. کدهای به‌دست آمده برای آنالیز شبکه برهم‌کنش پروتئین - پروتئین مورد استفاده قرار گرفتند. بدین ترتیب که به کمک نرم‌افزار Cytoscape v: 3.2.1 و الگوریتم‌های وابسته به آن پروتئین‌ها آنالیز شدند. الگوریتم مورد استفاده برای تشکیل شبکه برهم‌کنش پروتئینی، PSICQUIC (Proteomics Standard Initiative Common QUery InterfaCe) است. کدهای وارد شده در این سیستم، در پایگاه‌های اطلاعاتی مختلفی که تعامل پروتئین‌ها را بررسی می‌نمایند که شامل Mentha, Reactome-Fls و Reactome بررسی شدند.

مجموعه اطلاعات حاصل شده به صورت یک شبکه تعامل پروتئین – پروتئین نشان داده شد. وضعیت پروتئین‌های مورد بررسی در شبکه از نظر شاخص‌های مرکزی با استفاده از الگوریتم Network analyzer مطالعه گردید. این الگوریتم اطلاعاتی در ارتباط با انواع شاخص‌های مرکزیت می‌دهد که در این‌جا دو ویژگی مهم شامل Degree و centrality Betweenness لحاظ گردیده است. برخی خصوصیات دیگر پروتئین‌های مورد بررسی مانند تغییرات بیانی پروتئین‌ها به کمک نماد تغییرات اندازه و رنگ گره‌ها برای پروتئین در شبکه نشان داده شده است. این مشخصات به‌صورت فایل txt وارد نرم‌افزار شده و سپس به کمک شاخص‌های بخش Style، تغییرات اندازه و رنگ گره‌های مورد بررسی بر اساس تغییرات بیانی تعریف گردیده است. این تغییرات در شبکه یه صورت پیوسته نشان داده می‌شوند. در ادامه آنالیز شبکه، کمپلکس‌های پروتئینی مهم به کمک الگوریتم ModuLand شناسایی شدند [۱۲]. از آن‌جا که بخش‌های پرتراکم شبکه (کمپلکس‌های پروتئین) جایگاه انجام بسیاری از فرایندهای مهم در ارتباط با فنوتیپ عمل‌کردی ژن‌ها است، بررسی آن‌ها اهمیت زیادی دارد. با استفاده از ModuLand کمپلکس‌های پروتئینی تعیین می‌شوند و طی مراحلی با لحاظ همپوشانی این کمپلکس‌ها شبکه به‌صورت سلسله مراتبی در کمپلکس‌های عام‌تر خلاصه شده است. آخرین لایه نشان داده شده در این روش نشان‌دهنده کمپلکس کلیدی و پروتئین وابسته به آن است که می‌توان عمل‌کرد این پروتئین را در شبکه بسیار حائز اهمیت دانست. در ادامه با استفاده از نرم‌افزار DAVID فرایندهای زیستی عمده‌ای که کمپلکس‌های لایه اول (به دست آمده از الگوریتم ModuLand) در آن‌ها نقش دارند مورد بررسی قرار گرفتند. نرم‌افزار DAVID اطلاعاتی را در رابطه با هستی‌شناسی پروتئین‌ها و سایر مشخصات زیستی فراهم می‌سازد [۱۳]. پروتئین‌ها با استفاده از کدهای Accession_Uniprot، در پایگاه آنلاین DAVID جستجو شدند. این پایگاه با پایگاه‌های اطلاعاتی مختلفی در ارتباط است که اطلاعات مورد نظر را از این پایگاه‌ها استخراج می‌کند. اعتبار یافته‌های آنالیز شبکه می‌تواند از طریق انجام آزمایشات In-vivo تحقیق شود که این امر مستلزم طراحی یک پروژه تجربی می‌باشد.

نتایج

پروتئین‌های شناسایی شده و میزان تغییر در بیان آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. تیمار سلول‌ها با الکل سبب شده است که میزان بیان تمام این پروتئین‌ها کاهش بیابد.

جدول ۱: اطلاعات به‌دست آمده از نرم‌افزار Progenesis Samespots در رابطه با تغییرات بیانی شش پروتئین شناسایی شده در نمونه فیبروبلاست تیمار شده با الکل اتانول. میزان تغییرات بیان با P<۰/۰۵ معنی‌دار است.

به منظور بررسی نقش این پروتئین‌ها در تعامل با پروتئین‌ها دیگر شبکه، با استفاده از Cytoscape و بهره‌برداری از سه بانک اطلاعاتی Mentha, Reactome-Fls و Reactome شبکه برهم کنش پروتئین–پروتئین ترسیم شده است (شکل ۱). این شبکه با ۷۵۶ گره و ۱۱۶۶ اتصال شکل گرفته است.

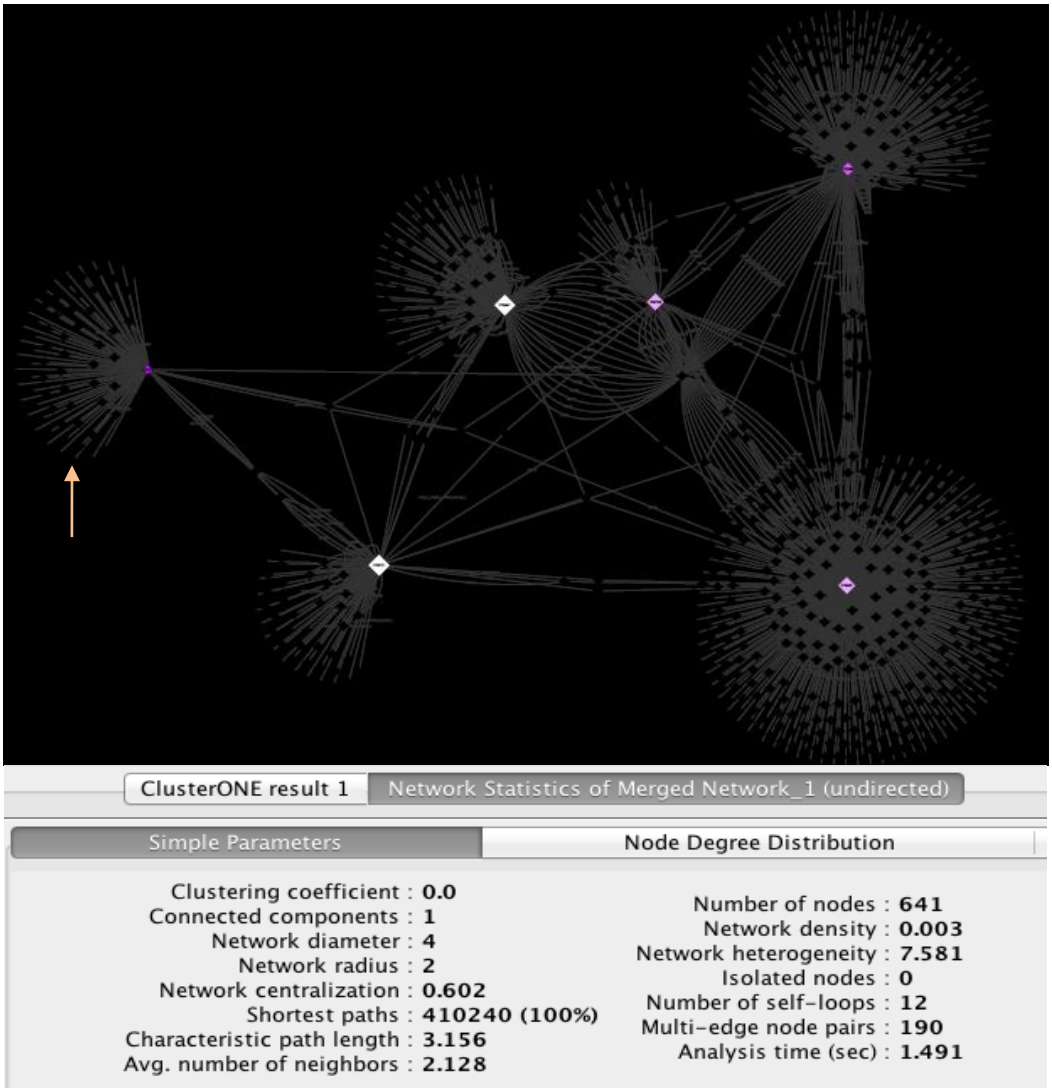
با توجه به شکل ۱ (سمت راست و پایین شکل) و لحاظ شاخص مرکزیت بر اساس درجه (تعداد اتصالات یک گره با دیگر گره‌ها) Heterogeneous nuclear (HNRNPA1) ribonucleoprotein A1 به عنوان یک پروتئین کلیدی نمایان شده است.

مجموعه‌ای از پروتئین‌ها که در ارتباط نزدیک با یک‌دیگر فرایند بیولوژیکی را کنترل می‌نمایند کمپلکس نامیده می‌شوند [۱۴،۱۵]. با استفاده از الگوریتم ModuLand، می‌توان اطلاعات مهمی را در ارتباط با شناسایی کمپلکس‌های حیاتی و عمل‌کردهای شاخص یک شبکه به‌دست آورد. در این روش طی مراحلی با لحاظ همپوشانی‌ها، شبکه در کمپلکس‌های عام‌تری خلاصه می‌شود و بنابراین با پیشرفت آنالیز از تعداد کمپلکس‌ها کاسته می‌شود به‌طوری در آخرین لایه می‌توان مهم‌ترین کمپلکس‌ها را یافت. در شکل ۲ مراحل آنالیز شبکه نشان داده شده است.

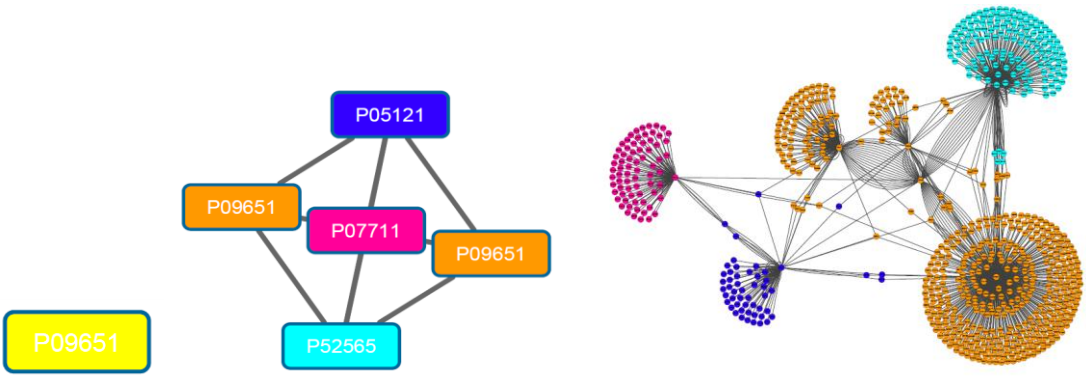
با استفاده از برنامه DAVID فرایندهای زیستی مرتبط با چهار پروتئین فعال در کمپلکس‌های پروتئینی لایه اول حاصل از الگوریتم ModuLand در جدول۲ نشان داده شده است.

جدول۱: اطلاعات بدست آمده از نرم‌افزار Progenesis Samespots در رابطه با تغییرات بیانی شش پروتئین شناسایی شده در نمونه فیبروبلاست تیمار شده با الکل اتانول. میزان تغییرات بیان با $p < ۰/۰۵$ معنی دار است.

نام پروتئین	چند برابر میزان کاهش بیان	مقدار بیان پروتئین در نمونه کنترل	مقداربیان پروتئین در نمونه تیمارشده
AnnexinA5	۲/۶	۳۶۹۵/۰۰۰	۱۴۴۰
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	۲/۶	۵۲۴۵/۴۴۳	۲۰۵۱
Rho-GDP dissociation inhibitor	۲/۸	۸۲۹۳/۸۳۶	۲۹۱۸
Cu/Zn-SOD	۲/۴	۲۹۱۱/۰۱۰	۱۲۲۲
Cathepsin L	۳/۳	۴۶۴۲/۰۰۰	۱۵۱۵
SERPINE1	۲/۲	۲۴۶۰/۹۹۹	۱۱۰۵



شکل۱. شبکه ترسیم شده بیان پروتئینی شش پروتئین شناسایی شده به وسیله نرم‌افزار Cytoscape . میزان بیان پروتئین‌های مورد مطالعه با توجه به میزان تغییرات بیان شده است. اندازه و رنگ گره متناسب با تغییرات بیان پروتئینی انتخاب شده است. هرچه گره‌ها کوچکتر باشند میزان کاهش بیان بیش‌تر است. از طرفی تغییر رنگ از سفید به بنفش نشانه کاهش میزان بیان است. Cathepsin L بیشترین میزان کاهش بیان را نشان می‌دهد که در شکل با پیکان مشخص شده است. در پایین شکل مشخصات شبکه بدست آمده بوسیله نرم‌افزار Network analyzer آورده شده است.



شکل۲. نمایی از لایه‌های سلسله مراتبی کمپلکس‌های پروتئینی، در این لایه‌ها کمپلکس‌های لایه‌های پایین به عنوان گره های (Metanodes) لایه‌های بالایی محسوب می‌شوند. تا اینکه در نهایت شبکه به صورت یک کمپلکس نشان داده می‌شود و کل شبکه در این کمپلکس خلاصه می شود. گره‌های کلیدی در کمپلکس‌های همپوشان نشان داده شده است. عملکرد این گره‌ها نماینده عملکرد کمپلکس‌های مربوط می باشد. در لایه آخر پروتئین Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 حضور دارد.

جدول۲. فرایندهای زیستی (BP) مرتبط با فعالیت چهار پروتئین در کمپلکس‌های لایه میانی با استفاده از برنامه Bioinformatics Resources V.6.7 DAVID (به شکل ۲ مراجعه شود)

P52565	Rho GDP dissociation inhibitor (GDI) alpha	Related Genes	Homo sapiens
GOTERM_BP_FAT	anti-apoptosis, cell motion, negative regulation of cell adhesion, intracellular signaling cascade, small GTPase mediated signal transduction, Ras protein signal transduction, Rho protein signal transduction, positive regulation of cell development, negative regulation of cell development, regulation of cell morphogenesis involved in differentiation, regulation of cell death, regulation of neuron projection development, regulation of cell morphogenesis, regulation of cell adhesion, regulation of cell projection organization, negative regulation of cell projection organization, positive regulation of cell projection organization, regulation of protein localization, regulation of apoptosis, negative regulation of apoptosis, regulation of programmed cell death, negative regulation of programmed cell death, negative regulation of cell differentiation, positive regulation of cell differentiation, regulation of neuron differentiation, regulation of neurogenesis, negative regulation of neurogenesis, positive regulation of neurogenesis, regulation of axonogenesis, negative regulation of axonogenesis, positive regulation of axonogenesis, positive regulation of developmental process, negative regulation of cellular component organization, positive regulation of cellular component organization, regulation of nervous system development, regulation of cell development, negative regulation of cell death,		
P07711	**cathepsin L1**	**Related Genes**	**Homo sapiens**
GOTERM_BP_FAT	proteolysis,		
P09651	**heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1-like 3; similar to heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1; heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 pseudogene 2; heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1; heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 pseudogene**	**Related Genes**	**Homo sapiens**
GOTERM_BP_FAT	RNA splicing, via transesterification reactions, RNA splicing, via transesterification reactions with bulged adenosine as nucleophile, nuclear mRNA splicing, via spliceosome, RNA processing, mRNA processing, RNA localization, RNA export from nucleus, nucleocytoplasmic transport, RNA splicing, nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid transport, mRNA metabolic process, intracellular transport, nucleic acid transport, RNA transport, mRNA transport, nuclear export, nuclear transport, nuclear import, establishment of RNA localization,		
P05121	**serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1), member 1**	**Related Genes**	**Homo sapiens**
GOTERM_BP_FAT	response to reactive oxygen species, chronological cell aging, response to oxidative stress, aging, cell aging, blood coagulation, hemostasis, response to wounding, response to inorganic substance, regulation of blood coagulation, negative regulation of blood coagulation, regeneration, regulation of response to external stimulus, carbohydrate homeostasis, growth, wound healing, regulation of cell proliferation, tissue regeneration, homeostatic process, glucose homeostasis, fibrinolysis, regulation of angiogenesis, developmental growth, chemical homeostasis, coagulation, regulation of coagulation, negative regulation of coagulation, regulation of body fluid levels, negative regulation of multicellular organismal process,		

بحث و نتیجه‌گیری

گزارشات متعددی وجود دارد که نشان‌دهنده ارتباط بین مصرف اتانول و ایجاد آسیب‌های حیاتی متنوعی در بدن موجود زنده و به‌خصوص انسان می‌باشند. از جمله این خطرها ایجاد سرطان است که در تحقیقات بسیاری به ایجاد سرطان‌هایی از قبیل سرطان پوست، پانکراس، سینه، پروستات و دستگاه گوارش ناشی از مصرف الکل اشاره شده است [۱۶-۲۰]. گر چه سرطان‌زایی الکل بارها مورد تایید قرار گرفته است اما مصرف آن در برخی از جوامع همچنان بالاست. تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که الکل ضمن سرطان‌زایی دارای اثرات زیستی متنوع دیگری نیز می‌باشد. باتوجه به نتایج به‌دست آمده از تحقیقات انجام شده توسط این گروه، دوزهای مشخصی از الکل اثرات مربوط به خود را ایجاد می‌کنند. در برخی از این دوزها جمعیت سلول‌های مورد مطالعه به شدت کاهش یافته‌اند. در دوزهای دیگری پروتئوم و یا به عبارتی دیگر میزان بیان ژن‌ها تغییرات چشمگیری نشان داده‌اند [۱۱]. به نظر می‌رسد آنالیز دقیق این تغییرات مولکولی می‌تواند اطلاعات ذی قیمتی در خصوص تاثیرگزاری اتانول بر انسان را فراهم نماید. در این تحقیق شش پروتئین سلول‌های فیبروبلاست انسانی که متعاقب تیمار با دوز ۲۷۰

میلی‌مولار الکل تغییر بیان قابل ملاحظه‌ای داشته اند مورد آنالیز دقیق قرار گرفته‌اند. میزان بیان همه این پروتئین‌ها کاهش یافته است. [۵]. این شش پروتئین شامل: AnnexinA5, Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, Rho-GDP dissociation inhibitor, Cathepsin L, Cu/Zn-SOD, Rho-GDP dissociation inhibitor, and Serpin peptidase inhibitor. می‌باشند [۱۱]. مشابهت این تغییرات با تغییرات اتفاق افتاده در سلول‌های سرطانی قبلاً توسط این گروه گزارش گردیده است [۱۱]. با توجه به نتایج به دست آمده پروتئین Cathepsin L بیش‌ترین تغییر بیان را در جهت کاهشی نشان داده است گرچه پروتئین Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 نیز تغییر بیان کاهشی محسوسی داشته است. ترسیم شبکه برهم‌کنش پروتئین – پروتئین در شکل ۳ تعامل سیستماتیک این پروتئین‌ها را نشان داده است. با توجه به شکل ۱ مشخص می‌شود که Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 پروتئینی است با تعداد اتصالات بیش‌تر در مقایسه با سایر پروتئین‌ها، بنابراین انتظار می‌رود که این پروتئین نقش برجسته‌ای را در کنترل فرایندهای زیستی مربوط عهده‌دار باشد. نقش شش پروتئین مورد مطالعه در شبکه چنان بارز است که انتخاب پروتئینی دارای اهمیت بیش‌تر دشوار است. بنابراین ناگزیر بایستی شبکه در کمپلکس‌هایی با شمولیت بیش‌تر خلاصه شود تا پروتئین‌هایی با تعاملات کم‌تر حذف گردند. در شکل ۲ این اتفاق به تصویر کشیده شده است. تعداد شش پروتئین مورد نظر در چهار کمپلکس لایه اول سازماندهی شده‌اند. چهار پروتئین معرف این کمپلکس‌ها عبارتند از: Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1، Rho-GDP dissociation inhibitor، Cathepsin L و SERPINE1. با ادامه آنالیز شبکه در آخرین لایه تنها پروتئینی که باقی می‌ماند Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 است. نتایج به‌دست آمده اهمیت زیاد این پروتئین در کنترل شبکه را به خوبی منعکس می‌نماید. به نظر می‌رسد شناخت چهار پروتئین مورد نظر و عمل‌کرد آن‌ها بتواند جزئیات بیش‌تری از تاثیر الکل بر انسان را منعکس نماید. با استفاده از برنامه DAVID فرایندهای زیستی که این چهار پروتئین در آن‌ها درگیر هستند (به جدول ۲ مراجعه شود) مشخص شدند. به‌جز Cathepsin L که تنها در فرایند زیستی پروتئولیز درگیر است سه پروتئین دیگر به فرایندهای متنوعی مرتبط هستند به‌طوری که Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 به تنهایی با نزدیک به ۴۰ فرایند در ارتباط است. جدول ۲ نقش این پروتئین را در مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، تمایز سلولی، حرکت سلولی و انتقال سیگنال به خوبی نشان می‌دهد. با تاثیری که دیگر پروتئین‌ها بر فرایندهایی مانند پردازش RNA و سایر فرایندهای مهم درون سلولی می‌گذارند به نظر می‌رسد که الکل علاوه بر این‌که عامل خطر ابتلا به سرطان است، می‌تواند به طور گسترده‌ای در عمل‌کرد طبیعی سلول اختلال ایجاد کند.

یکی از نکات برجسته در تحلیل نقش این پروتئین‌ها نقص اطلاعات در خصوص ژن‌های است که احتمالاً پیامد مصرف الکل بیان آن‌ها تغییر یافته است اما هنوز این وضعیت مشخص نگردیده است. به نظر می‌رسد انجام تحقیقات بیش‌تر در این زمینه می‌تواند اطلاعات تکمیلی را فراهم نماید. یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که اولاً الکل باعث ایجاد تغییرات شدیدی در میزان بیان ژن‌های متنوعی از سلول می‌شود و ثانیاً سبب اختلال در تعداد قابل توجهی از فرایندهای مهم درون سلولی می‌شود. یکی از ژن‌های مهم متاثر شده از الکل Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 است که در تنظیم بخش عظیمی از فرایندهای درون سلولی مداخله می‌نماید.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی تحت عنوان بررسی شبکه بیان پروتئینی سرطان پوست و سلول‌های فیبروبلاست انسانی تیمار شده با الکل اتانول با کد ۶۸۷۸ و برگرفته از پایان‌نامه تحقیقاتی مقطع دکتری مونا زمانیان عضدی می‌باشد.

منابع

[1] Laurent D, Mathew J, Mitry M, Taft M, Force A, Edwards J. Chronic ethanol consumption increases myocardial mitochondrial DNA mutations: A potential contribution by mitochondrial topoisomerases. Alcohol Alcohol 2014; 49: 381-389.

[2] Bardou M, Montembault S, Giraud V, Balian A, Borotto E, Houdayer C, et al. Excessive alcohol consumption favours high risk polyp or colorectal cancer occurrence among patients with adenomas: a case control study. Gut 2002; 50: 38-42.

[3] Aminigram P, Rezaei Tavirani M, Zamanian Azodi M, Bagheri B, Nasr R, Akbari Eidgahi Mr. Ethanol-induced chromosomal abnormalities in human fibroblast cells. koomesh 2014; 16: 254-259. (Persian).

[4] Zamanian–Azodi M, Rezaei–Tavirani M, Hasanzadeh H, Rahmati Rad S, Dalilan S, Gilanchi S, Manzour H. Introducing biomarker panel in esophageal, gastric, and colon cancers; A Proteomic approach. Gastroenterol Hepatol Bed Bench 2015; 8: 6-18.

[5] Aminigram P, Rezaei Tavirani M, Zamanian Azodi M, Bagheri B, Nasr R, Akbari Eidgahi Mr. Ethanol-induced chromosomal abnormalities in human fibroblast cells. koomesh 2015; 16: 254-259. (Persian).

[6] Zali H, Zamanian-Azodi M, Rezaei Tavirani M , Baghban A. Protein drug targets of lavandula angustifolia on treatment of Rat Alzheimer's Disease. Iran J Pharm Res 2015; 14: 291-302.

[7] Hasanzadeh H, Rezaie-Tavirani M, Seyyedi S, Emadi A. Proteomics Study of extremely low frequency electromagnetic field (50 Hz) on human neuroblastoma cells. Koomesh 2015; 17: 233-238. (Persian).

[8] Zamanian-Azodi M, Rezaei-Tavirani M, Rahmati-Rad S, Hasanzadeh H, Tavirani MR, Seyyedi SS. Protein-Protein Interaction Network could reveal the relationship between the breast and colon cancer. Gastroenterol Hepatol Bed Bench 2015; 8: 215-224.

[9] Zali H, Rezaei Tavirani M. Meningioma Protein-Protein Interaction Network. Arch Iran Med 2014; 17: 262-272.

[10] Rezaei-Tavirani M, Zamanian Azodi M, Rajabi S, Masoudi-Nejad A, Rostami Nejad M, RahmatiRad S. Evaluation of protein clustering of Parkinson and Alzheimer's diseases. Arch Iran Med 2016; 19: 101-109.

[11] Zamanian Azodi M, Rezaei Tavirani M, Rahmati-Rad S, Rezaei Tavirani M. Ethanol and cancer induce similar changes on protein expression pattern of human fibroblast cells. Iran J Pharm Res. (Persian).

[12] Szalay-Bekő M, Palotai R, Szappanos B, Kovács IA, Papp B, Csermely P. ModuLand plug-in for Cytoscape: determination of hierarchical layers of overlapping network modules and community centrality. Bioinformatics 2012; 28: 2202-2204.

[13] Dennis Jr G, Sherman BT, Hosack DA, Yang J, Gao W, Lane HC, Lempicki RA. DAVID: database for annotation, visualization, and integrated discovery. Genome Biol 2003; 4: P3.

[14] Safari-Alighiarloo N, Taghizadeh M, Rezaei-Tavirani M, Goliaei B, Peyvandi AA. Protein-protein interaction networks (PPI) and complex diseases. Gastroenterol Hepatol Bed Bench 2014; 7: 17.

[15] Becker E, Robisson B, Chapple CE, Guénoche A, Brun C. Multifunctional proteins revealed by overlapping clustering in protein interaction network. Bioinformatics 2012; 28: 84-90.

[16] Lucenteforte E, La Vecchia C, Silverman D, Petersen G, Bracci P, Ji B, et al. Alcohol consumption and pancreatic cancer: a pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case–Control Consortium (PanC4). Annal Oncol 2012; 23: 374-382.

[17] Seitz HK, Pelucchi C, Bagnardi V, La Vecchia C. Epidemiology and pathophysiology of alcohol and breast cancer: Update 2012. Alcohol Alcohol 2012; 47: 204-212.

[18] Haas SL, Ye W, Löhr JM. Alcohol consumption and digestive tract cancer. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2012; 15: 457-467.

[19] Rota M, Scotti L, Turati F, Tramacere I, Islami F, Bellocco R, et al. Alcohol consumption and prostate cancer risk: a meta-analysis of the dose–risk relation. Eur J Cancer Prev 2012; 21: 350-359.

[20] Kubo JT, Henderson MT, Desai M, Wactawski-Wende J, Stefanick ML, Tang JY. Alcohol consumption and risk of melanoma and non-melanoma skin cancer in the Women's Health Initiative. Cancer Causes Control 2014; 25: 1-10.

Protein-protein interaction network analysis of human fibroblast cells treated with ethanol

Mona Zamanian-Azodi (Ph.D Student) [1], Mostafa Rezaei-Tavirani (Ph.D)*[2], Maryam Peyvandi (MD)[2], Akram Safaei (Ph.D Student)[1], Majid Rezaei-Tavirani (M.D)[3], Mohammad Mahboubi (Ph.D)[4], Farshad Okhovatian (Ph.D)[5], Hossein Ali Safakhah (M.Sc)[6]

1 - Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2 - Proteomics Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3 - Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4 - Abadan School of Medical Sciences, Abadan, Iran
5 - Physiotherapy Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6 - Physiology Research Center and Dept. of Physiology, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received: 15 Nov 2015; Accepted: 28 May 2016)

Introduction: Studies show that ethanol can induce changes in proteomic profile of human fibroblast cells. Some of these proteins are important in promoting cancer. Thus, analyzing function and interaction networks of these proteins are essential for better understanding the carcinogenesis mechanism of ethanol.

Materials and Methods: In this study the protein-protein interaction network (PPI) of six significant down-regulated proteins in human fibroblast cells (HFFF2) treated with ethanol were analyzed by using Cytoscape software and its algorithms.

Results: PPI network analysis showed that the constructed network consisted of 756 nodes and 1166 edges. Results indicated that Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 with degree = 528 and Betweenness Centrality = 0.74 is a hub protein that ethanol can alter its expression. In addition, module evaluation showed that the hub protein has a key role in different overlapped complexes. On the other hand, annotation studies by using DAVID program indicated that this protein is involved in different important biological processes in the cell.

Conclusion: The six down-regulated proteins treated with ethanol may become carcinogenic and can impose vast alterations in other vital biological processes of the cell. Among them, Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 is the most important one.

Keywords: Ethanol, Fibroblasts, Protein Interaction Maps, Gene Ontology

* Corresponding author. Tel: +98 98 21 22714248
tavirany@yahoo.com