

## بررسی شبکه برهم کنش پروتئینی اختلال افسردگی ماژور با استفاده از اطلاعات پروتئومیکی مایع مغزی-نخاعی

مجید رضایی طاویرانی<sup>۱</sup> (M.D)، رضا وفایی<sup>۲</sup> (M.D)، وحید منصوری<sup>۳</sup> (Ph.D)، مونا زمانیان عضدی<sup>۳\*</sup> (Ph.D Student)

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

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

۳- مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

### چکیده

هدف: با توجه به این که اختلال افسردگی شایع ترین اختلال روحی- روانی در جوامع بشری است، لذا بررسی مولکولی در این زمینه می تواند درک بهتری از این اختلال پیچیده فراهم نماید. در این تحقیق ارتباط بین پروتئین های مرتبط با این بیماری بررسی تا اهمیت بیش تر برخی از آن ها در مکانیسم مولکولی بیماری آشکار شود. مواد و روش ها: اسامی پروتئین های تغییر بیان یافته مایع مغزی-نخاعی مرتبط با اختلال افسردگی ماژور استخراج و شبکه تعامل پروتئینی ۳۹ پروتئین به کمک نرم افزار Cytoscape ترسیم شد. الگوریتم های وابسته شامل MCODE و ClueGO+CluePedia با استفاده از آنالیز هستی شناسی ژن، به ترتیب برای شناسایی کمپلکس های پروتئینی و مسیرهای زیستی به کار گرفته شدند.

یافته ها: آنالیز شبکه نشان داد که تغییر بیان ۱۵ پروتئین به عنوان پروتئین های کلیدی نقش مهمی در ابتلا به این اختلال ایفا می نماید. شبکه حاوی چهار کمپلکس پروتئینی است و هفت مسیر مهم اختلال افسردگی ماژور نیز تعیین شدند.

نتیجه گیری: در این تحقیق پروتئین ها، کمپلکس ها و مسیرهای زیستی مهم و مرتبط با اختلال افسردگی ماژور تعیین شدند که انجام تحقیقات تکمیلی می توانند به معرفی اهداف دارویی احتمالی و بیومارکرهای تشخیصی منجر شوند.

واژه های کلیدی: اختلال افسردگی اساسی، شبکه برهم کنش پروتئینی، کمپلکس پروتئینی، هستی شناسی ژن

### مقدمه

در ابتلا به این بیماری تاثیرگذار هستند. این اختلال علت شناسی، تظاهرات بالینی، و پاسخ به درمان ناهمگن دارد و این موضوع درمان آن را با دشواری های فراوان روبرو کرده است و هزینه های هنگفتی را بر جوامع بشری تحمیل می کند. علائم این اختلال شامل روحیه پایین، عدم اعتماد به نفس و مالیخولیا می باشد. در شرایط حاد بیماری، فرد دچار توهم و هذیان گویی می شود. مجموعه برهمکنش بین مسیرهای

اختلال افسردگی ماژور، اختلال پیچیده روحی-روانی است که در جوامع بشری شیوع نسبتاً بالایی دارد [۱]. حدود ۱۶٪ افراد در طول زندگی خود به این اختلال مبتلا می شوند [۲]. در جوامع غربی این اختلال سالانه موجب مرگ حدود یک میلیون نفر می شود [۳]. با وجود شیوع بالای این اختلال، علت آن تاکنون مشخص نشده است [۴]. فاکتورهای مختلفی

مسیرهای زیستی شود و شناسایی پروتئین‌های کلیدی و مسیرهای خاص بیولوژیکی مرتبط با بیماری به شناخت بیش تر آن، علت‌شناسی و توسعه روش‌های طراحی دارو کمک می‌نماید [۱۴]. پروتئین‌ها اجزای حیاتی سیستم موجود زنده می‌باشند که عمل‌کردهای مختلفی را به نمایش می‌گذارند. آن‌ها به عنوان ماشین‌های مولکولی که نقش انتقالی، گیرندگی، و یا ساختاری دارند با سایر پروتئین‌ها به منظور انجام عمل‌کردهای مختلف ارتباط برقرار می‌کنند. در واقع، شبکه برهمکنش پروتئینی اطلاعات مرتبطی را در ارتباط با عمل‌کردهای سلولی و مسیرهای زیستی فراهم می‌کند [۱۵]. برخی از پروتئین‌ها به عنوان هاب با ایجاد ارتباطات متنوعی با دیگر پروتئین‌ها نقش مهمی را در تشکیل شبکه ایفا می‌نمایند. پروتئین‌ها از طریق ایجاد ارتباط با سایر پروتئین‌ها شبکه ارتباطی و زیستی فعالی را ایجاد می‌نمایند که به تبع تغییرات و تحریکات محیطی و نیز تحولات درونی این شبکه تغییر پیدا می‌کند [۱۶]. در بسیاری از موارد این تغییرات ممکن است به ایجاد اختلال یا بیماری منجر شوند. بنابراین منطقی به نظر می‌رسد که شبکه برهمکنش پروتئینی وابسته به افسردگی ترسیم و آنالیز شود تا اطلاعات تکمیلی و بیش‌تری از پروتئین‌های کلیدی درگیر در مسیرهای زیستی مرتبط با بیماری به‌دست آید. به نظر می‌رسد با انجام این تحقیق امکان شناخت بهتر و جامع‌تری از مکانیسم بیماری فراهم شود. در این مقاله شبکه برهمکنش پروتئینی نمونه مایع مغزی-نخاعی افراد مبتلا به اختلال افسردگی ماژور ترسیم و تجزیه و تحلیل می‌شود.

## مواد و روش‌ها

اطلاعات مربوط به پروتئین‌های تغییر بیان یافته مایع مغزی-نخاعی افراد مبتلا به اختلال افسردگی ماژور تهیه شد [۱۲]. کد Uniprot پروتئین‌ها جهت بررسی با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape نوشته شد و با کمک منبع String db اطلاعات مربوط به ارتباط بین پروتئین‌ها به‌دست آمد. این نرم‌افزار قابلیت شناسایی ارتباطات بین پروتئین‌ها و آنالیز

بیولوژیک و فاکتورهای محیطی مانند عوامل استرس‌زا در شکل‌گیری بیماری نقش دارند [۵]. افسردگی تاثیرات منفی بر زندگی خانوادگی، روابط اجتماعی و روابط شغلی فرد می‌گذارد. نقش وراثت در این اختلال حدود ۳۱ تا ۴۲٪ برآورد شده است. با وجود نقش بالای زن‌ها در این اختلال، تهیه پروفایل ژنی مرتبط با آن کار بسیار دشواری است. از سوی دیگر مطالعات مولکولی از جمله مطالعات پروتئومیکسی درجه جدیدی در شناخت بسیاری از اختلالات پیچیده را نمایان کرده است [۶]. مطالعه پروفایل پروتئینی به عنوان اجزای عمل‌کردی سلول کمک شایانی در شناخت پروتئین‌های بیان شده و تغییر یافته بعد از ترجمه می‌کند [۷]. از این پروتئین‌ها می‌توان به عنوان ابزارهای تشخیصی و درمانی استفاده کرد [۸،۹]. مسیرهای زیستی متعددی در ارتباط با این اختلال شناسایی شده‌اند اما با این وجود مطالعات بیش‌تری برای شناخت سایر مسیرهای مرتبط مورد نیاز است [۱۰]. مطالعات پروتئومیکسی زیادی روی منابع مختلف به‌دست آمده از نمونه‌های انسانی انجام شده است. از آن جمله می‌توان به بررسی‌های پروتئومیکسی نمونه سرم، مایع مغزی-نخاعی و نمونه مغز افراد فوت شده اشاره نمود [۳،۱۱،۱۲]. مایع مغزی-نخاعی حاوی سلول‌ها و ترکیباتی است که با مطالعه آن‌ها می‌توان اطلاعاتی را از مسیرهای زیستی داخل سیستم عصبی مرکزی به‌دست آورد. بیش از ۳۰ تا ۴۰٪ آن از مایع خارج سلولی مغز و نخاع تشکیل شده است. ترکیبات سالم و بیمار این مایع قابل بررسی است و نماینده‌ای از تغییرات داخل مغز است. بیان، عدم بیان و یا تغییر میزان بیان هر کدام از پروتئین‌های مایع مغزی-نخاعی به پیش‌بینی، تشخیص، درمان و حتی علت‌شناسی بیماری کمک بسیاری می‌نمایند. مطالعه پروتئوم اطلاعات کاملی از تمام پروتئین‌های تغییر یافته را فراهم می‌نماید [۱۳]. با توجه به مطالعات مولکولی از جمله مطالعات پروتئومیکسی گسترده در رابطه با اختلال افسردگی، بررسی‌های شبکه‌های مولکولی جهت پی بردن به مسیرهای زیستی بیماری ضروری به نظر می‌رسد. اختلال در بیان پروتئین‌های مرتبط با بیماری می‌تواند عامل ایجاد اختلال در

است که منابع اطلاعاتی آن به طور مرتب به روز می‌شود. آنالیز هستی‌شناسی مسیرهای زیستی شامل بررسی بخش‌های خیلی عمومی تا اختصاصی می‌باشد. این الگوریتم مسیرهای زیستی را به صورت گروه‌هایی دسته‌بندی می‌کند که به کمک روش نمره‌دهی کاپا میزان ارتباط مسیرهای مختلف به هر گروه مشخص می‌شود. این روش آماری نمره‌دهی بین مقادیر ۰ تا ۱ قابل تغییر است [۲۱،۲۰]. در این جا مقدار کاپا معادل ۰/۵ تنظیم شده و حداقل و حداکثر انتولوزی به ترتیب ۳ و ۸ تعیین شده است. مقدار  $p$  نیز کم‌تر از  $0.05$  ( $p < 0.05$ ) در نظر گرفته شد و روش تصحیح مقدار  $p$  روش Bonferroni step down بود. آزمون Enrichment/Depletion two-sided (Enrichment/Depletion) بر اساس Hypergeometric در نظر گرفته شد.

## نتایج

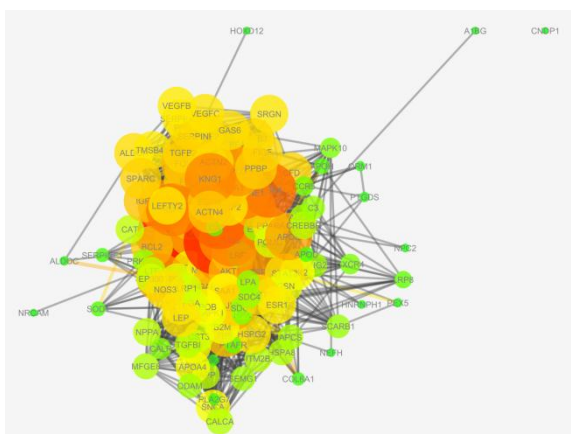
شبکه برهم کنش پروتئینی اختلال افسردگی مازور به کمک نرم‌افزار Cytoscape رسم شد. این اطلاعات شامل ۳۹ پروتئین تغییر بیان یافته مایع مغزی- نخاعی می‌باشد. این شبکه با استفاده از نرم‌افزار String db موجود در نرم‌افزار Cytoscape ترسیم شده است. در شکل ۱ شبکه برهم کنش ۳۹ پروتئین و در شکل ۲ شبکه شامل ۳۹ پروتئین اصلی و ۱۰۰ پروتئین مرتبط (که توسط نرم‌افزار شناسایی شده‌اند) ترسیم شده‌اند.

اطلاعات مربوط به شاخص‌های مرکزیت به کمک الگوریتم Network Analyzer به دست آمد. از جمله شاخص‌های پراهمیت مرکزیت "درجه" پروتئین‌های شبکه است. پروتئین‌های با درجه بالا از اهمیت کلیدی در شبکه برخوردار می‌باشند. با استفاده از گزینه Parameter Visualizer در Network Analyzer اطلاعات مرکزیت بر اساس درجه مربوط به شبکه شکل ۲ به تصویر کشیده شده است (شکل ۳).

پروتئین‌های کلیدی شبکه با استفاده از نرم‌افزار Network Analyzer به دست آمده که در این شبکه (شبکه ترسیم شده

ساختار شبکه را به کمک الگوریتم‌های وابسته را دارد. برای ترسیم شبکه امکان استفاده از منابع مختلف وجود دارد که در این جا از String به سبب ارائه نتایج با اطمینان بالا استفاده شده است. این منبع نیز خود اطلاعات ارتباطات بین پروتئین‌ها را از منابع مختلف شبکه برهم کنش استخراج می‌کند [۱۸،۱۷]. در این تحقیق از جدیدترین نسخه نرم‌افزار Cytoscape استفاده شده است. شبکه برهم‌کنش پروتئینی شامل این پروتئین‌ها و ۱۰۰ پروتئین دیگر که به شبکه وابسته شدند ترسیم شد و  $evidence\ cut\ off = 0.5$  قرار داده شد. بعد از ترسیم شبکه، وضعیت پروتئین‌های مورد بررسی در شبکه از نظر شاخص مرکزیت با استفاده از الگوریتم Network analyzer مطالعه گردید. گره‌ها نماینده پروتئین‌ها و اتصالات نشان‌دهنده ارتباط بین پروتئین‌ها است. این الگوریتم اطلاعاتی را در ارتباط با انواع شاخص‌های مرکزیت فراهم می‌کند که در این تحقیق ویژگی مهم مرکزی "درجه" لحاظ گردیده است. گره‌هایی که درجه بالایی دارند به عنوان پروتئین‌های کلیدی شبکه برهم کنش افسردگی مازور معرفی شدند. سپس مناطق پرتراکم شبکه برهم کنش به کمک MCODE موجود در نرم‌افزار Cytoscape، مورد بررسی قرار گرفت. این روش یکی از متداول‌ترین و معتبرترین روش‌های بررسی کمپلکس‌ها (مناطق پرتراکم برهم کنش) می‌باشد [۱۹]. کمپلکس‌ها با لحاظ  $k-Core = 2$  و  $Degree\ cutoff = 2$  و  $Node\ Score\ Cutoff = 0.2$  ترسیم شدند. کمپلکس‌های با نمره بالا به عنوان خوشه‌های پراهمیت شبکه برهم کنش پروتئینی معرفی گردیدند. در این خوشه‌ها، گره‌های که بالاترین نمره را داشتند به عنوان پروتئین seed معرفی شدند. پروتئین‌های موجود در یک خوشه، هستی‌شناسی مشابه‌ای دارند. در نهایت پروتئین‌های مرتبط از نظر مسیرهای زیستی مورد بررسی قرار گرفتند. شناسایی مسیرهای زیستی به شناخت مکانیسم بیماری کمک می‌کند. از الگوریتم ClueGO 2.1.7+CluePedia وابسته به نرم‌افزار Cytoscape برای بررسی مسیرهای زیستی پروتئین‌های استفاده شد. این نرم‌افزار یکی از معتبرترین روش‌های آنالیز مسیرهای زیستی

جدول ۱ مشخص شده‌اند. بررسی شبکه ترسیم شده در شکل ۲ با MCODE نشان می‌دهد که چهار کمپلکس پروتئینی (مناطق از شبکه که پروتئین‌ها تراکم بسیار بالایی از نظر برهم کنش داخلی با هم دیگر دارند) در شبکه وجود دارد. پروتئین‌های seed، (پروتئین‌هایی با بالاترین نمره در هر کمپلکس) نیز مشخص شده‌اند (جدول ۲).

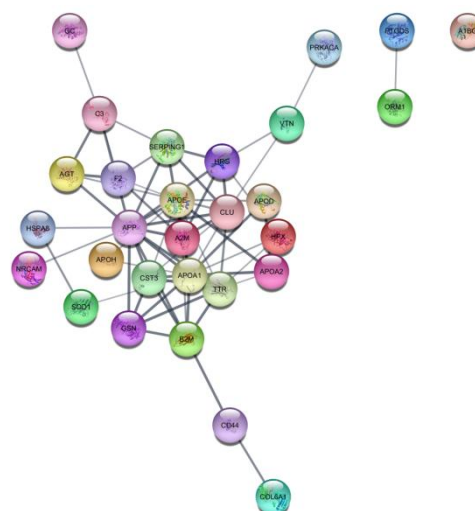


شکل ۳. معرفی گره‌های موجود در شبکه ترسیم شده در شکل ۲. تغییر رنگ و اندازه گره‌ها از قرمز به سبز و از بزرگ به کوچک نشان دهنده اهمیت آنها در درجه است. بدین ترتیب که گره‌های بزرگ تر و قرمز دارای درجه بالاتری می‌باشند.

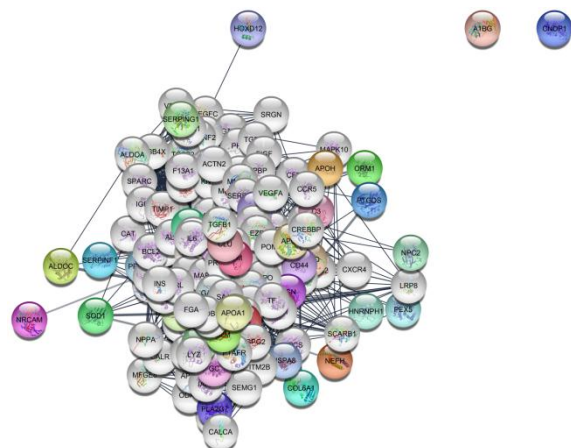
جدول ۱. پروتئین‌های کلیدی شبکه برهم کنش پروتئین‌های اختلال افسردگی ماژور استخراج شده از شبکه ترسیم شده در شکل ۲.

نام ژن	پروتئین‌های کلیدی	درجه
ALB	Albumin	۹۷
APP*	amyloid beta (A4) precursor protein	۹۰
TGFB1	transforming growth factor, beta 1	۷۴
VEGFA	vascular endothelial growth factor A	۷۱
IGF1	insulin-like growth factor 1 (somatomedin C)	۶۷
UBC	ubiquitin C	۶۶
SERPINE1	serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1), member 1	۶۶
KNM1	kininogen 1	۶۴
TIMP1	TIMP metalloproteinase inhibitor 1	۶۳
CLU*	Clusterin	۶۲
PLG	Plasminogen	۶۲
PRDM10	PR domain containing 10	۶۱
TSPO	translocator protein (18kDa)	۶۱
APOA1*	apolipoprotein A-I	۵۹
INS	Insulin	۵۹

در شکل ۲) تعداد ۱۵ پروتئین بالاترین درجات را نشان می‌دهند (جدول ۱).



شکل ۱. نمایی از شبکه برهم کنش پروتئینی مرتبط با اختلال افسردگی ماژور. این شبکه ۷۲ تا اتصال دارد. با توجه به شکل تنها ۲۷ پروتئین قادر به تشکیل شبکه شدند. Evidence cut off= ۰/۵



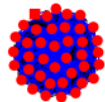
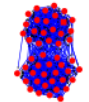


شکل ۲. نمایی از شبکه برهم کنش پروتئینی اختلال افسردگی ماژور شامل ۳۹ پروتئین مورد نظر و ۱۰۰ پروتئین مرتبط دیگر. پروتئین‌های اضافه شده با رنگ خاکستری مشخص‌اند. دو گره A1BG و CNDP1 وارد شبکه نشدند. این شبکه از ۱۳۸ گره و ۲۳۸۹ اتصال تشکیل شده است.

بر اساس آنالیز شبکه، آلبومین بالاترین درجه را در این شبکه نشان می‌دهد. تنها سه مورد از این پروتئین‌ها جزو پروتئین‌های ورودی این مطالعه می‌باشند که با نماد ستاره در

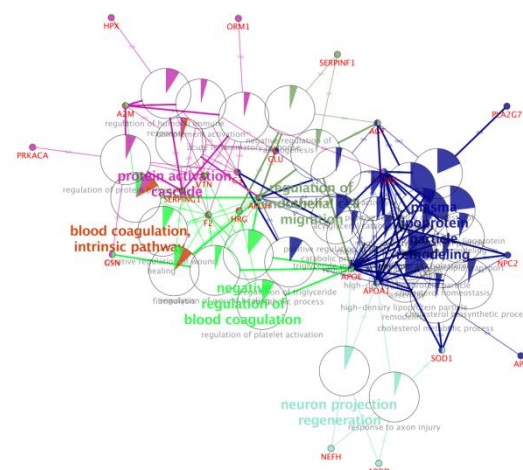
## بحث و نتیجه گیری

پیش‌بینی‌ها نشان می‌دهد که اختلال افسردگی ماژور یکی از اختلالات پیچیده روحی-روانی شایع، تا سال ۲۰۲۰، به دومین بیماری آسیب‌رسان از نظر اقتصادی تبدیل می‌شود [۲۲]. تغییرات مولکولی از جمله تغییر بیان پروتئین‌ها نقش مهمی در ایجاد این اختلال بازی می‌کنند. منابع زیستی مختلفی برای بررسی وضعیت این پروتئین‌های تغییر بیان یافته وجود دارد. یکی از این منابع مایع مغزی-نخاعی است. پروتئین‌های موجود در این بخش از بدن می‌توانند به کمک روش‌های پیشرفته پروتئومیکسی بررسی شوند و پروتئین‌های تغییر بیان یافته شناسایی شوند [۲۳]. پروتئین‌هایی که تغییر بیان معنی‌دار در یک بیماری دارند می‌توانند به عنوان بیومارکر معرفی می‌شوند. از سوی دیگر این پروتئین‌ها با برقرار کردن ارتباط با سایر پروتئین‌ها می‌توانند منجر به انجام عمل‌کردهای مختلف شوند [۲۴]. این‌که از میان این پروتئین‌های تغییر بیان یافته، کدام یک نقش مهم‌تری از نظر برقراری ارتباط دارند، با استفاده از الگوریتم‌های مختلف قابل بررسی است. تغییرات بیانی هر یک از این عناصر کلیدی می‌تواند تاثیر مهمی روی عمل‌کرد سایر پروتئین‌ها بگذارد و مسیرهای زیستی متعددی را دچار اختلال کند. این مسیرهای تغییر یافته بخشی از مکانیسم‌های یک بیماری می‌باشند [۲۵]. در این مطالعه به بررسی بیش‌تر اطلاعات پروتئین‌های تغییر بیان یافته به‌دست آمده از مایع مغزی-نخاعی به کمک نرم‌افزار آنالیز شبکه برهم کنش پروتئینی پرداخته شد. همان‌طور که از شکل ۱ مشخص است، بخشی از پروتئین‌های انتخاب شده شبکه را تشکیل دادند و ۱۲ مورد از پروتئین‌ها وارد ساختار شبکه اصلی نشدند و ارتباط مستقیمی را با سایر عناصر نشان ندادند. ارتباط این پروتئین‌ها با شبکه ناشی از فقدان پروتئین‌های ارتباطی است که در تحقیقات گزارش نشده‌اند. به منظور رفع این اشکال ۱۰۰ گره دیگر (از توانمندی‌های نرم‌افزار در یافتن این پروتئین‌ها می‌باشد) به شبکه اضافه شد که سبب گردید ۱۰ تا از پروتئین‌هایی که در شکل ۱ خارج از شبکه بودند بتوانند به شبکه وارد شوند (شکل ۲ را ملاحظه شود). تنها دو پروتئین

جدول ۲. کمپلکس‌های پروتئینی بدست آمده از آنالیز MCODE برای شبکه ترسیم شده در شکل ۲. گره‌ها با رنگ قرمز مشخص شده‌اند. گره‌ای که بصورت مربع نشان داده شده است، seed است. در کمپلکس‌های ۱ تا ۴ seed ها به ترتیب عبارتند از: AGT, CALCA, VEGFA, MAPK10 و Node Score = ۲, k-Core=۲, Degree cutoff= ۰/۲. Cutoff

Rank	Cluster	Details
1		Score: 40 Nodes: 40 Edges: 780
2		Score: 25.447 Nodes: 48 Edges: 598
3		Score: 3.333 Nodes: 7 Edges: 10
4		Score: 3.111 Nodes: 10 Edges: 14

با استفاده از ClueGO+CluePedia مسیرهای زیستی مهمی که ۳۹ پروتئین مورد نظر در آن مسیرها مشارکت می‌نمایند و در ارتباط با اختلال افسردگی ماژور هستند تعیین گردیدند (شکل ۴).



شکل ۴. با استفاده از ClueGO+ CluePedia مسیرهای زیستی مهمی شامل:

Plasma lipoprotein particle remodeling, Protein activation cascade, Negative regulation of blood coagulation, Blood coagulation, intrinsic pathway, Neuron projection regeneration, Regulation of endothelial cell migration که ۳۹ پروتئین مورد نظر در آن مسیرها مشارکت می‌نمایند و در ارتباط با اختلال افسردگی ماژور هستند نشان داده شده است ( $p < 0.05$ ).

پروتئین‌های مرتبط با این مسیرها موجب نقص در این فرایندها می‌شوند. به نظر می‌رسد ابتلا به اختلال افسردگی مازور توام با اختلال در مسیرهای بیوشیمیایی متنوعی می‌باشد. طیف این مسیرها می‌تواند شامل مسیرهایی کاملاً مرتبط با سیستم عصبی مانند Neuron projection regeneration باشد و یا این‌که مسیرهای دیگری مانند لخته شدن خون. به نظر می‌رسد علاوه به جنبه‌های روحی و روانی افسردگی مازور، اختلال در عمل‌کرد سایر دستگاه‌های بدن نیز در ابتلا به این بیماری حائز اهمیت است. گرچه استفاده از پروتئین‌های تغییر بیان یافته از یک منبع برای تشکیل شبکه برهمکنش پروتئینی مرتبط با بیماری می‌تواند در تجزیه و تحلیل دقیق مکانیسم احتمالی بیماری مفید باشد، اما ممکن است تعداد دیگری از ژن‌های مرتبط که از طرق مطالعه سایر منابع زیستی قابل بررسی می‌باشند نادیده گرفته شوند، این نکته از محدودیت‌های تحقیق به‌شمار می‌رود. پیشنهاد می‌شود به منظور درک بیش‌تری از وقایع مولکولی پروتئین‌های تغییر بیان یافته دیگری که از منابع دیگر بیماران مثلاً بافت یا سرم به دست آمده است نیز آنالیز شوند. انجام تحقیقات آزمایشگاهی گسترده با استفاده از نمونه‌های کافی می‌تواند در اعتبار بخشی به این یافته‌ها مفید باشد تا بتوان اهداف دارویی و بیومارکرهای تشخیصی مرتبط با اختلال افسردگی مازور را معرفی نمود.

## تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه تحقیقاتی مقطع دکتری مونا زمانیان عضدی می‌باشد.

## منابع

- [1] Ghorbani R. Effects of cognitive therapy, drug therapy and combined therapy in improvement of major depression. *Koomesh* 2011; 13: 114-119.
- [2] Bot M, Chan MK, Jansen R, Lamers F, Vogelzangs N, Steiner J, et al. Serum proteomic profiling of major depressive disorder. *Transl Psychiatry* 2015; 5: 1-9.
- [3] Martins-de-Souza D, Guest P, Harris L, Vanattou-Saifouline N, Webster M, Rahmoune H, Bahn S. Identification of proteomic signatures associated with depression and psychotic depression in post-mortem brains

A1BG و CNDP1 از شبکه خارج ماندند. آنالیز شبکه نشان داد که ۱۵ پروتئین دارای شاخص مرکزیت "درجه" بالایی هستند که به پروتئین‌های هاب معروف می‌شوند (به شکل ۳ و جدول ۱ توجه شود). از ۱۵ پروتئین هاب تعداد سه پروتئین از جمله ۳۹ پروتئین گزارش شده و ۱۲ پروتئین دیگر نیز از بین ۱۰۰ پروتئین اضافه شده به شبکه معرفی شده‌اند. این سه پروتئین شامل APP, APOA1, و CLU می‌باشند. در منابع مختلفی به نقش این سه دسته پروتئین در سایر بیماری‌ها نیز اشاره شده است. پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید (APP)، آپولیپوپروتئین (APOA1) A1 و کلاسترین (CLU) نقش مهمی در سایر بیماری‌های عصبی و روحی-روانی ایفا می‌نمایند [۲۶-۲۸]. بر اساس مطالعه انجام شده توسط عضدی و همکاران دو پروتئین اول در شبکه برهم‌کنش اختلال وسواس اجباری با منشاء سرم نقش مهمی را بازی می‌کنند. این پروتئین‌ها بر اساس آنالیز شبکه نقش کلیدی را در پایداری شبکه عهده‌دار هستند [۲۹] و می‌تواند به عنوان اهداف دارویی احتمالی بررسی شوند. نتایج بررسی شبکه با الگوریتم MCODE در شکل ۳ نشان‌دهنده وجود ۴ کمپلکس در شبکه اختلال افسردگی مازور است. در کمپلکس ۱، APP و CLU وجود دارند که به عنوان پروتئین‌های کلیدی شبکه معرفی شدند. هم‌چنین VEGFA به عنوان پروتئین Seed و Hub در کمپلکس ۱ است. در کمپلکس ۱ پروتئین ALB حضور دارد که کلیدی‌ترین پروتئین شبکه است. در کمپلکس ۲، APOA1 وجود دارد که جزو پروتئین‌های کلیدی است. بررسی مسیرهای زیستی از ۳۹ پروتئین ورودی با کمک ClueGO+ CluePedia انجام شد و مسیرهای زیستی مهمی در ارتباط با اختلال افسردگی مازور یافت شدند که با توجه به شکل ۴، مسیرهای

Plasma lipoprotein particle remodeling, Protein activation cascade, Negative regulation of blood coagulation, Blood coagulation, intrinsic pathway, Neuron projection regeneration, Regulation of endothelial cell migration  
معنی‌دارترین مسیرهای بیوشیمیایی موجود در اختلال افسردگی مازور می‌باشند. در واقع اختلال در عمل‌کرد

- protein interaction network analysis of cirrhosis liver disease. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2016; 9: 114-123.
- [17] Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res* 2003; 13: 2498-2504.
- [18] Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, Forslund K, Heller D, Huerta-Cepas J, et al. STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life. *Nucleic Acids Res* 2015; 43: D447-452.
- [19] Bader GD, Hogue CW. An automated method for finding molecular complexes in large protein interaction networks. *BMC Bioinformatics* 2003; 4: 1-27.
- [20] Bindea G, Mlecnik B, Hackl H, Charoentong P, Tosolini M, Kirilovsky A, et al. ClueGO: a Cytoscape plugin to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks. *Bioinformatics* 2009; 25: 1091-1093.
- [21] Bindea G, Galon J, Mlecnik B. Cluepedia cytoscape plugin: pathway insights using integrated experimental and in silico data. *Bioinformatics* 2013; 29: 661-663.
- [22] Sayehmiri K. Is there a relationship between metabolic syndrome and depression? A systematic review and meta-analysis. *Koomesh* 2015; 16: 488-494.
- [23] Puchades M, Hansson SF, Nilsson CL, Andreassen N, Blennow K, Davidsson P. Proteomic studies of potential cerebrospinal fluid protein markers for Alzheimer's disease. *Brain Res Mol Brain Res* 2003; 118: 140-146.
- [24] Lim J, Hao T, Shaw C, Patel AJ, Szabó G, Rual JF, et al. A protein-protein interaction network for human inherited ataxias and disorders of Purkinje cell degeneration. *Cell* 2006; 125: 801-814.
- [25] Lage K, Karlberg EO, Størling ZM, Olason PI, Pedersen AG, Rigina O, et al. A human phenome-interactome network of protein complexes implicated in genetic disorders. *Nature Biotechnol* 2007; 25: 309-316.
- [26] Yang Y, Wan C, Li H, Zhu H, La Y, Xi Z, et al. Altered levels of acute phase proteins in the plasma of patients with schizophrenia. *Anal Chem* 2006; 78: 3571-3576.
- [27] Small SA, Petsko GA. Retromer in Alzheimer disease, parkinson disease and other neurological disorders. *Nat Rev Neurosci* 2015; 16: 126-132.
- [28] Harold D, Abraham R, Hollingworth P, Sims R, Gerrish A, Hamshere ML, et al. Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. *Nature Genet* 2009; 41: 1088-1093.
- [29] Zamanian-Azodi M, Rezaei-Tavirani M, Nejadi N, Arefi Oskouei A, Zayeri F, Hamdieh M, et al. Serum proteomic profiling of obsessive-compulsive disorder (OCD), washing subtype: a preliminary study. *Basic Clin Neur J (Persian)* from major depression patients. *Transl Psychiatry* 2012; 2: 1-13.
- [4] Hamet P, Tremblay J. Genetics and genomics of depression. *Metabolism* 2005; 54: 10-15.
- [5] Mirmohammadhani M. Vitamin D serum levels in nurses in Semnan educational hospitals and its association with depression. *Koomesh* 2016; 17: 313-322.
- [6] Zamanian-Azodi M, Mortazavi-Tabatabaei SA, Mansouri V, Vafae R. Metabolite-protein interaction (MPI) network analysis of obsessive-compulsive disorder (OCD) from reported metabolites. *Arvand J Health Med Sci* 2016; 2: 112-120.
- [7] Rezaei-Tavirani M, Rahmati-Rad S, Rezaei-Tavirani M. Ethanol and cancer induce similar changes on protein expression pattern of human fibroblast cell. *Iran J Pharmac Res* 2016; 15: 175-184. (Persian).
- [8] Zali H, Zamanian-Azodi M, Tavirani MR, Baghban AA-z. Protein drug targets of *lavandula angustifolia* on treatment of rat Alzheimer's disease. *Iran J Pharmac Res* 2015; 14: 291-302.
- [9] Rezaei-Tavirani M, Fayazfar S, Heydari-Keshel S, Rezaei MB, Zamanian-Azodi M, Rezaei-Tavirani M, Khodarahmi R. Effect of essential oil of *Rosa Damascena* on human colon cancer cell line SW742. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2013; 6: 25-31.
- [10] Tohyama M, Miyata S, Hattori T, Shimizu S, Matsuzaki S. Molecular basis of major psychiatric diseases such as schizophrenia and depression. *Anat Sci Int* 2015; 90: 137-143.
- [11] Stelzhammer V, Haenisch F, Chan MK, Cooper JD, Steiner J, Steeb H, et al. Proteomic changes in serum of first onset, antidepressant drug-naïve major depression patients. *Int J Neuropsychopharmacol* 2014; 17: 1599-1608.
- [12] Ditzen C, Tang N, Jastorff AM, Teplytska L, Yassouridis A, Maccarrone G, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers for major depression confirm relevance of associated pathophysiology. *Neuropsychopharmacology* 2012; 37: 1013-1025.
- [13] Schutzer SE, Liu T, Natelson BH, Angel TE, Schepmoes AA, Purvine SO, et al. Establishing the proteome of normal human cerebrospinal fluid. *PLoS One* 2010; 5: e10980.
- [14] Zamanian-Azodi M, Rezaei-Tavirani M, Rahmati-Rad S, Hasanazadeh H, Rezaei Tavirani M, Seyyedi SS. Protein-protein interaction network could reveal the relationship between the breast and colon cancer. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2015; 8: 215-224.
- [15] Ranjbar MM, Ahmadi NA, Ghorban K, Ghalyanchi Langeroudi A, Dadmanesh M, Amini H-R, Sedighi Moghaddam B. Immunoinformatics: novel view in understanding of immune system function, databases and prediction of immunogenic epitopes. *Koomesh* 2015; 17: 18-26.
- [16] Safaei A, Rezaei Tavirani M, Arefi Oskouei A, Zamanian Azodi M, Mohebbi SR, Nikzamir AR. Protein-

---

# Protein-protein interaction network analysis of major depression disorder via proteomic approach from cerebrospinal fluid sample

Majid Rezaei Tavirani (M.D)<sup>1</sup>, Reza Vafaei (M.D)<sup>2</sup>, Vahid Mansouri (Ph.D)<sup>3</sup>, Mona Zamanian Azodi (Ph.D. Student)<sup>\*3</sup>

1 – Dept. of Surgery, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2 - Proteomics Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3 - Proteomics Research Center, Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 16 Jul 2016; Accepted: 23 Jan 2017)

**Introduction:** As the major depression disorder (MDD) is one of the prevalent psychiatric conditions, molecular characteristic is important to gain a better understanding of its complex nature. In this study, the protein-protein interaction network analysis is carried out in order to have a better understanding the molecular mechanism of MDD.

**Materials and Methods:** The MDD differentially expressed proteins of cerebral fluid were extracted from the literature. Cytoscape Software was used for the network construction of 39 retrieved proteins. In addition, Cytoscape plug-ins, MCODE and ClueGO+CluePedia identified the protein complexes and biological processes, respectively.

**Results:** The MDD map centrality analysis identified 15 hub proteins. This network comprises of four protein complexes and seven significant biological processes.

**Conclusion:** In this study, some of the central proteins, protein complexes, and biological processes related to MDD are introduced. The further investigations can help validating possible drug targets and diagnostic biomarkers.

**Keywords:** Major Depression Disorder, Protein Interaction Maps, Protein Complex, Gene Ontology

---

\* Corresponding author. Tel: +98 21 22714248

Mona.azodi@gmail.com