

ارتباط تغییرات سطح سرمی پروتیین S100 β و بیان ژن سلادین-یک هیپوکامپ در مدل آلزایمر اسپورادیک حیوانی

چکیده

سهیلا حسین زاده^{۱*}

مریم زحمتکش^۱، غلامرضا

حسین زاده^۱، مرتضی کریمیان^۱

منصور حیدری^۵، محمود کرمی^۶

۱- گروه علوم اعصاب، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۲- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران.

۳- گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۴- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۵- گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۶- گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس، چالوس، ایران.

دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۵/۱۴ آنلاین: ۱۳۹۴/۰۷/۱۶

زمینه و هدف: پروتیین سلادین-یک (Seladin-1) از نورون‌ها در برابر توکسیسیتی حاصل از آمیلوئید بتا محافظت می‌کند و بیان آن در مناطق تحت آسیب مغز بیماران مبتلا به آلزایمر کاهش می‌یابد. از طرفی تغییرات سطح سرمی S100 β به‌عنوان شاخص صدمه مغزی در بیماریهای نورودژنراتیو مطرح می‌باشد. بنابراین مطالعه حاضر جهت بررسی ارتباط بین روند تغییرات سطح سرمی پروتیین S100 β و بیان ژن سلادین-یک هیپوکامپ در مدل آلزایمر اسپورادیک حیوانی طراحی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، گروه علوم اعصاب از اسفند ۹۰ تا اردیبهشت ۹۲ انجام شد، ۷۲ سر رت نر به‌طور تصادفی به گروه‌های کنترل، سالیین و استرپتوزوسین ۴، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز تقسیم شدند. مدل آلزایمر به روش تزریق داخل بطنی استرپتوزوسین به میزان ۳ mg/kg در روزهای اول و سوم آفقاء شد. تغییرات سطح S100 β سرم و بیان ژن سلادین-یک هیپوکامپ در گروه‌های آزمایشی مورد ارزیابی قرار گرفت. عملکرد رفتاری حیوان از نظر تأخیر اولیه و تأخیر در حین عبور در آزمون رفتار اجتنابی غیرفعال تعیین گردید.

یافته‌ها: سطح S100 β سرم و بیان ژن سلادین-یک هیپوکامپ در گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معناداری نشان داد ($P=0/0001$). ارتباط معناداری بین کاهش سطح سرمی پروتیین S100 β و بیان ژن سلادین-یک هیپوکامپ مشاهده شد ($P=0/001$). همچنین کاهش تأخیر در حین عبور در گروه استرپتوزوسین ۲۱ روز در مقایسه با گروه‌های کنترل و سالیین معنادار بود ($P=0/001$).

نتیجه‌گیری: پایش تغییرات سطح سرمی پروتیین S100 β به‌واسطه ارتباط با تغییرات ژن سلادین-یک هیپوکامپ می‌تواند به‌عنوان شاخص صدمه نورونی در بیماران مبتلا به آلزایمر مفید واقع شود.

کلمات کلیدی: آلزایمر، استرپتوزوسین، هیپوکامپ، سلادین-یک، S100 β .

* نویسنده مسئول: بابل، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بابل، ایران.

تلفن: ۰۱۱-۳۲۱۹۵۹۲-۶
E-mail: hoseinzadeh_soheila@yahoo.com

مقدمه

پروتیین سلادین-یک در محیط برون تنی از سلول‌ها در برابر پپتید آمیلوئید بتا-۴۲ و آپوپتوز ناشی از استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند.^۱ سطح بیان ژن سلادین-یک در مناطق تحت آسیب مغز بیماران مبتلا به آلزایمر کاهش می‌یابد و به‌عنوان یک شاخص دژنراسیون نورونی مطرح می‌باشد.^{۲-۶}

پروتیین سلادین-یک، که توسط ژن (DHCR24)-24 dehydrocholesterol reductase کد می‌شود، علاوه بر فعالیت آنزیمی، اثرات ضد آپوپتوزی و آنتی‌اکسیدانی نیز نشان می‌دهد.^۱

گروه‌های سالی‌ن (۴، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از تزریق)، تحت جراحی استریوتاکسی قرار گرفته و سالی‌ن به روش داخل بطنی تزریق شد. گروه‌های استریوتوزوتوسین (۴، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از تزریق)، تحت جراحی استریوتاکسی قرار گرفته و استریوتوزوتوسین به روش داخل بطنی تزریق شد.

در گروه‌های سالی‌ن و استریوتوزوتوسین، یک هفته پس از جراحی استریوتاکسی، فعالیت حرکتی حیوان با استفاده از آزمون جعبه باز بررسی شد. چهار، هفت، ۱۴ و ۲۱ روز پس از تزریق داخل بطنی سالی‌ن/ استریوتوزوتوسین و پس از انجام آزمون رفتار اجتنابی غیرفعال، نمونه خون گرفته شد. سپس سر حیوان با گیوتین جدا، مغز بی‌درنگ خارج و هیپوکامپ راست برای بررسی Real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) استفاده قرار گرفت.

جهت القای مدل آلزایمر، رت‌ها با تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین به میزان (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۱۵ mg/kg)، بیهوش شده و در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. پس از ایجاد برش سر در خط وسط و کنار زدن بافت‌های نرم از سطح جمجمه، پیوسته‌های برگما و لامبدا مشخص شد. مختصات فضایی بطن طرفی بر اساس اطلس Watson and Paxinos در یک رت ۲۹۰ گرمی به صورت $0/8 \text{ mm}$ - نسبت به خط بین گوش‌ها، $1/5 \text{ mm} \pm$ نسبت به خط وسط جمجمه، 4 mm نسبت به سطح جمجمه محاسبه گردید.^{۲۰} پس از کانول‌گذاری و طی دوره بهبودی (هفت روز)، به رت‌های دارای وزن طبیعی و فعالیت حرکتی، استریوتوزوتوسین به میزان 3 mg/kg b.wt با استفاده از Hamilton Syringe (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) متصل به پمپ ظرف مدت ۱۵ دقیقه در روز اول و سوم و در هر دو طرف داخل بطن مغزی تزریق شد.^{۱۵} حجم تزریق در هر طرف $5 \mu\text{l}$ بود که حدود $1/5 \text{ mg}$ از استریوتوزوتوسین را شامل می‌شد. برای بررسی تأثیر تزریق داخل بطنی استریوتوزوتوسین با دوز Sub-diabetogenic بر سطح پلاسمایی گلوکز، مقدار آن با روش آنزیمی گلوکز اکسیداز و با استفاده از اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد.

برای بررسی فعالیت حرکتی جعبه باز (Open field) از یک جعبه چوبی باز به ابعاد $80 \times 80 \times 45 \text{ cm}$ استفاده شد که کف آن به 25 مربع مساوی تقسیم شده بود. شاخص‌های رفتاری حرکت در خانه‌های جعبه باز (تعداد دفعاتی که حیوان با دو اندام جلویی خود وارد خانه

$S100\beta$ ، پروتیین متصل شونده به کلسیم بوده و به‌طور عمده از آستروسیت‌ها آزاد می‌شود.^{۹-۷} این پروتیین اثرات نوروتروفیک خارج سلولی دارد و به دلیل دخالت در هموستاز کلسیم درون سلولی، در عملکرد نورون‌های مغزی موثر می‌باشد. سطح $S100\beta$ در بیماری‌های نورودژنراتیو و التهابی افزایش می‌یابد.^{۱۰} مطالعات بسیاری سطح خارج سلولی این پروتیین را در بیماری‌های نورولوژیک و نوروسایکولوژیک مورد ارزیابی قرار داده و به نتایج متناقضی دست یافتند.^{۱۱، ۱۲} علیرغم آن، تغییرات سطح سرمی پروتیین $S100\beta$ به‌عنوان شاخص صدمه مغزی در بیماری‌های نورودژنراتیو مطرح می‌باشد.^{۱۱} تزریق داخل بطنی استریوتوزوتوسین به‌عنوان یک مدل حیوانی مناسب در القای بیماری آلزایمر اسپورادیک مطرح می‌باشد.^{۱۳-۱۵} که سبب کاهش گلوکز مغز/متابولیسم انرژی، استرس اکسیداتیو، اختلال شناختی، نقص کولینرژیک و مقاومت به انسولین در مغز می‌شود.^{۱۶، ۱۷} در این مدل مقاومت به انسولین، پیش از بروز تغییرات پاتولوژیک بیماری آلزایمر در مغز رخ می‌دهد و به تولید آمیلوئید بتا و تاو می‌انجامد.^{۱۸، ۱۹}

تاکنون بررسی مشخصی در مورد تغییرات همزمان سطح سرمی پروتیین $S100\beta$ و بیان ژن سلادین-۱ یک هیپوکامپ در بیماری آلزایمر صورت نگرفته است، بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط روند تغییرات این دو متغیر در مدل آلزایمر اسپورادیک حیوانی در یک بازه زمانی ۲۱ روز، طراحی و انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که از اسفند ۱۳۹۰ تا اردیبهشت ۱۳۹۲ در دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، گروه علوم اعصاب انجام شد، از ۷۲ سر موش صحرایی نر (رت) از نژاد Sprague-Dawley در محدوده وزنی $290-300 \text{ gr}$ استفاده شد. رت‌ها در شرایط آزمایشگاهی مناسب نگهداری شدند و موارد اخلاقی طی مراحل مختلف پژوهش، در مواجهه با حیوان و جمع‌آوری نمونه بر اساس استانداردهای کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران رعایت شد.

حیوانات به‌طور تصادفی در ۹ گروه قرار داده شدند. گروه کنترل شامل رت‌های سالم بوده که تحت عمل جراحی قرار نگرفتند.

گرفت. در مطالعه حاضر نتایج با استفاده از SPSS software, version 20 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) آنالیز شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز One-way ANOVA و برای مقایسه بین گروه‌ها از شاخص Student-Newman-Keuls test استفاده شد. اختلاف معنادار در سطح $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. ارتباط بین متغیرها از طریق Pearson Correlation Coefficient محاسبه شد.

یافته‌ها

سطح پلاسمایی گلوکز در گروه‌های کنترل، سالیین و استرپتوزوتوسین تفاوت معناداری نداشت. همچنین حرکت در خانه‌های جعبه باز ($P = 0.73$) و تعداد دفعات ایستادن بر روی دو پا ($P = 0.854$) در گروه‌های استرپتوزوتوسین و سالیین با گروه کنترل تفاوت معناداری را نشان نداد.

زمان تأخیر اولیه در گروه‌های کنترل، سالیین و استرپتوزوتوسین تفاوت معناداری نشان نداد. تأخیر در حین عبور در گروه استرپتوزوتوسین ۲۱ روز ($54/12 \pm 10/9$) کاهش معناداری در مقایسه با گروه‌های کنترل و سالیین ($171/37 \pm 30/6$) نشان داد ($P = 0.001$)، ولی تفاوت معناداری با سایر گروه‌های استرپتوزوتوسین نداشت. از نظر شاخص فوق تفاوت معناداری در گروه‌های کنترل، سالیین، استرپتوزوتوسین چهار، هفت و ۱۴ روز دیده نشد.

بیان ژن سلادین-یک در گروه‌های استرپتوزوتوسین ۱۴ و ۲۱ روز کاهش معناداری در مقایسه با گروه‌های کنترل، سالیین و استرپتوزوتوسین چهار روز نشان داد (جدول ۱، $P = 0.001$)، ولی اختلاف معناداری با گروه استرپتوزوتوسین هفت روز دیده نشد. همچنین سطح بیان این ژن در گروه‌های کنترل، سالیین و استرپتوزوتوسین چهار و هفت روز تفاوت معناداری نداشت.

کمترین سطح پروتیین S100 β سرم مربوط به گروه استرپتوزوتوسین هفت روز بود که کاهش معناداری نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد. افزون بر آن، سطح سرمی S100 β در گروه استرپتوزوتوسین ۱۴ روز کاهش معناداری در مقایسه با گروه‌های کنترل، سالیین و استرپتوزوتوسین چهار روز نشان داد (جدول ۱، $P = 0.001$)، ولی در مقایسه با گروه استرپتوزوتوسین ۲۱ روز تفاوت

جدید می‌شد) و تعداد دفعات ایستادن بر روی دو پا (تعداد دفعاتی که حیوان روی پاهای عقبی خود می‌ایستاد و محیط اطراف را بررسی می‌کرد) طی پنج دقیقه اندازه‌گیری شد.^{۲۱} برای بررسی رفتار اجتنابی غیرفعال (Passive avoidance test) از یک دستگاه به ابعاد ۲۰×۸۰×۲۰ cm دارای یک محفظه روشن و یک محفظه تاریک استفاده شد. رفتار اجتنابی غیرفعال شامل مراحل سازش، اکتساب و به یادآوری است. پس از سازش حیوان (دو روز متوالی به مدت پنج دقیقه) با دستگاه، روز سوم و در مرحله اکتساب لامپ محفظه روشن و درب گیوتینی باز می‌شد. تأخیر اولیه (Initial latency-IL)، مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان از محفظه روشن وارد محفظه تاریک شود، ثبت می‌شد. سپس تک تحریکی به شدت ۱/۵ میلی آمپر و به مدت دو ثانیه اعمال گردید. پس از ۲۴ ساعت و در مرحله به یادآوری، تأخیر در حین عبور (Step-Through Latency (STL)، مدت زمانی که حیوان در محفظه روشن باقی می‌ماند پیش از آن که وارد محفظه تاریک شود، اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری بیان ژن سلادین-یک توسط Real-time RT-PCR RNA بافت هیپوکامپ راست استخراج و cDNA سنتز شد. به منظور بررسی کمی بیان ژن سلادین-یک، پس از سنتز نمونه‌های cDNA توسط آنزیم رونوشت بردار معکوس و بررسی کیفی آنها با استفاده از RT-PCR ژن Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)، واکنش Real-time RT-PCR با استفاده از دستگاه SYBR Premix CFX96 (Bio-Rad, Hercules, CA) و به کمک کیت Ex TaqTM II (Clontech Laboratories, Inc., Canada) تسوالی نوکلئوتید پرایمرهای Forward و Reverse ژن GAPDH، به ترتیب TGGTGCCAAAAGGGTCATC و CTTCCACGATGCCAAAGTTG TGAGACAGTGA و TACCGCTCTCCCTCATCTTC GCCATCCA می‌باشد. تغییرات سطوح بیان ژن سلادین-یک به روش نسبی و براساس روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ به دست آمد.^{۲۲}

اندازه‌گیری پروتیین S100 β در سرم: غلظت S100 β در سرم حاصل از خون محیطی (ورید دمی) که تحت سانتریفوژ $1000 \times g$ به مدت ۱۵ دقیقه و در $4^\circ C$ حاصل شد، توسط S100 β Human ELISA Kit (BioVendor Laboratory Medicine, Inc., Brno, Czech. Republic) مورد اندازه‌گیری قرار

جدول ۱: مقایسه سطح بیان ژن سلادین-یک و سطح سرمی پروتیین S100 β موش‌های صحرایی در گروه‌های آزمایشی

گروه‌ها	کنترل	سالیین ۷	سالیین ۱۴	سالیین ۲۱	استرپتوزوتوسین ۴ روز	استرپتوزوتوسین ۷ روز	استرپتوزوتوسین ۱۴ روز	استرپتوزوتوسین ۲۱ روز	خطای استاندارد میانگین	P
بیان ژن سلادین-یک	۱/۰۸	۰/۸۸	۱	۱/۰۶	۱/۰۴	۰/۹۴	۰/۶۱	۰/۴۴ ^{oo}	۰/۳ ^{oo}	۰/۰۰۰۱
سطح سرمی S100 β	۱۱۷/۷۹	۱۱۹/۱۴	۱۱۸/۱۲	۱۲۳/۴۶	۱۲۷/۴۶	۱۲۱/۷۴	۵۳/۴۴ ^{oo}	۷۶/۲۳ ^{oo}	۹۷/۷۸	۳/۷۹

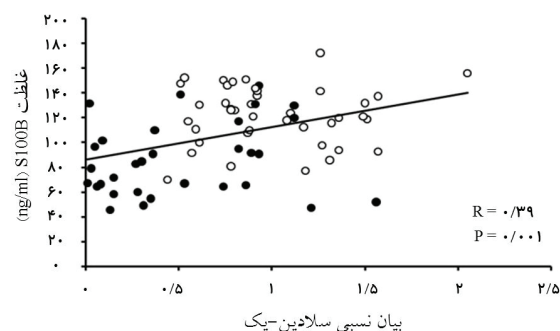
^o $P < 0/05$ در مقایسه با گروه‌های کنترل و سالیین، $P < 0/05$ در مقایسه با گروه استرپتوزوتوسین چهار روز، $P < 0/05$ در مقایسه با گروه استرپتوزوتوسین هفت روز [†] $P < 0/05$ در مقایسه با گروه‌های استرپتوزوتوسین ۱۴ و ۲۱ روز، آنالیز داده‌ها به کمک One-way ANOVA انجام و اختلاف معنادار در سطح $P < 0/05$ در نظر گرفته شد. نکته: سطح سرمی پروتیین S100 β بر حسب ng/ml سرم بیان شده است.

بحث

در مطالعه کنونی ارتباط تغییرات سطح سرمی پروتیین S100 β و بیان ژن سلادین-یک هیپوکامپ در مدل حیوانی آلزایمر اسپورادیک پس از تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاصل، حکایت از وجود رابطه بین آنها دارد.

در آزمون جعبه باز تفاوت معناداری بین گروه‌های مورد مطالعه دیده نشد که نشان‌دهنده عدم تأثیر جراحی بر فعالیت حرکتی حیوان می‌باشد. همچنین تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین بر سطح پلاسمایی گلوکز گروه‌های آزمایشی تأثیر قابل ملاحظه‌ای نداشت. در مطالعه حاضر اختلال شناختی معناداری در گروه استرپتوزوتوسین ۲۱ روز در مقایسه با گروه‌های کنترل و سالیین دیده شد که به‌واسطه کاهش میانگین زمان طی شده حین گذر به محفظه تاریک در مرحله تست (تأخیر در حین عبور) نشان داده شد. نتایج این پژوهش با بررسی‌های پیشین که کاهش فرآیندهای شناختی را در این مدل گزارش نموده‌اند، هم راستا است.^{۱۴، ۱۶، ۳۳} اختلال در رفتار اجتنابی غیرفعال به عدم توانایی در نگهداری و به یادآوری داده‌ها در گروه‌های استرپتوزوتوسین اشاره دارد.

در مطالعه ما بیان ژن سلادین-یک، ۱۴ و ۲۱ روز پس از تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین کاهش معناداری نشان داد. از آنجایی که



نمودار ۱: ارتباط بین سطح سرمی پروتیین S100 β و بیان ژن سلادین-یک هیپوکامپ در گروه‌های آزمایشی.

نکته: اشکال هندسی توخالی به گروه‌های کنترل و سالیین و توپر به گروه‌های استرپتوزوتوسین مربوط است.

معناداری دیده نشد. همچنین سطح سرمی S100 β بین گروه‌های کنترل، سالیین و استرپتوزوتوسین چهار و ۲۱ روز تفاوت معناداری نشان نداد. نتایج حاصل از آنالیز همبستگی بین تغییرات سطح بیان ژن سلادین-یک و سطح سرمی پروتیین S100 β ، رابطه خطی مستقیمی را نشان داد. به عبارت دیگر، به موازات کاهش سطح بیان ژن سلادین-یک، سطح سرمی S100 β نیز کاهش یافت (نمودار ۱، $r = 0/39$ ، $P = 0/001$).

تشکیل می‌دهد که غیروابسته به فعالیت آنزیمی DHCR24 و نیز غلظت کلسترول غشایی بوده و به واکنش سلادین-یک با پروتیین p53 مرتبط است.^{۳۳،۳۴}

سطح پروتیین S100 β سرم، در گروه‌های استریپتوزوتوسین هفت و ۱۴ روز کاهش نشان داد. در مطالعات پیشین به کاهش S100 β سرم در بیماران مبتلا به آلزایمر اشاره شده است.^{۱۱} همچنین کاهش S100 β CSF در مدل دمانس القایی با هیپوپرفیوژن مزمن مغزی نیز دیده شده است.^{۳۵} البته، گزارشاتی نیز از افزایش سطح پروتیین S100 β در بافت مغز بیماران مبتلا به آلزایمر وجود دارد.^{۱۲،۳۶} تفاوت گزارش‌ها در بررسی‌های مختلف ممکن است به مرحله‌ای از پیشرفت بیماری آلزایمر که در آن این شاخص اندازه‌گیری می‌شود، وابسته باشد. برای نمونه، در مراحل اولیه بیماری آلزایمر، افزایش موقت در سطح S100 β در CSF گزارش شده است، در حالی‌که در مراحل پیشرفته‌تر بیماری شرایط متفاوت است.^{۳۶} سطح سرمی پروتیین S100 β به‌عنوان شاخص صدمه مغزی در مطالعات آزمایشگاهی یا کلینیکی مطرح می‌باشد، از این‌رو زمان دقیق اندازه‌گیری آن می‌تواند بازتاب خوبی از وضعیت سیستم عصبی باشد.^{۳۷}

افزایش غلظت S100 β در بافت مغزی بیماران مبتلا به آلزایمر به‌دنبال فعال شدن آستروسیت‌ها^{۱۲} و طی پیشرفت بیماری می‌تواند تا حدودی مسئول کاهش سطح خارج سلولی این پروتیین باشد.^{۳۸-۴۰} شواهد زیادی گواه بر دخالت استرس اکسیداتیو در پاتوژنز بیماری آلزایمر وجود دارد^{۴۱} و آستروسیت‌ها نیز با مصرف بالای اکسیژن (حدود ۲۰٪ کل اکسیژن بدن) به اثرات ROS حساس و نقش مهمی در دفاع آنتی‌اکسیدانی در سیستم عصبی مرکزی ایفاء می‌کنند. از طرفی افزایش بیان پروتیین S100 β در آستروسیت‌های فعال شده در بیماران مبتلا به آلزایمر به ظهور نوریت‌های دیستروفیک حاوی پیش ماده پروتیین آمیلوئید در رسوبات آمیلوئید منتشر و در نتیجه حضور پلاک‌های نوریتیک آمیلوئید بتا منجر می‌شود.^{۴۲}

با در نظر گرفتن اثرات نوروتروفیک خارج سلولی این پروتیین،^{۹-۷} این احتمال وجود دارد که کاهش سطح سرمی S100 β در گروه‌های استریپتوزوتوسین هفت و ۱۴ روز به‌دلیل نقص در پاسخ به این آسیب‌ها باشد. علیرغم گزارشات ضد و نقیض بر اختصاصی بودن پروتیین S100 β در مغز، آن به‌عنوان شاخص محیطی ارزیابی

تزریق داخل بطنی استریپتوزوتوسین باعث تغییر در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مغز می‌شود^{۴۳} و متابولیسم انرژی را مختل می‌کند، می‌تواند به کاهش سطح بیان ژن سلادین-یک در پی استرس اکسیداتیو بیانجامد. برخی از پژوهش‌ها کاهش سطح بیان ژن سلادین-یک را در بیماران مبتلا به آلزایمر نشان داده‌اند. Greeve و همکارانش، کاهش سطح بیان ژن سلادین-یک در کورتکس تمپورال بیماران مبتلا به آلزایمر و ارتباط آن با فقدان نورونی و کاهش میزان بیان ژن در نورون‌های باقیمانده را گزارش کردند.^۴ نتایج بررسی حاضر با مطالعه Liang و همکاران در یک راستا می‌باشد که به کاهش سطح بیان ژن سلادین-یک در هیپوکامپ بیماران مبتلا به آلزایمر اشاره دارد.^۶ کاهش سطح بیان ژن سلادین-یک در نواحی مختلف مغز موش‌های مبتلا به بیماری آلزایمر نیز گزارش شده است که با دژنراسیون نورونی در آن نواحی همراه بوده است،^{۲۵،۲۶} از این‌رو پروتیین سلادین-یک به‌عنوان یک شاخص دژنراسیون نورونی مطرح می‌باشد.

همچنین برخی از پژوهشگران، کاهش بیان ژن سلادین-یک را معلول افزایش سطوح پروتیین‌های کلیدی در پاتوژنز بیماری آلزایمر می‌دانند.^{۲۵} این موضوع نیز تأییدی بر نقش حفاظت از سیستم عصبی این پروتیین در بیماری آلزایمر است. اساس مولکولی اثر گفته شده ناشناخته است، با این وجود مطالعات برون‌تنی نشان می‌دهد، اثرات حفاظت از سیستم عصبی استروژن به‌واسطه اثرات تحریکی آن بر بیان سلادین-یک اعمال می‌شود.^{۲۷}

البته در برخی از مطالعات، سطح بیان ژن سلادین-یک در هیپوکامپ،^{۲۸،۲۹} ماده خاکستری هیپوکامپ،^{۳۰} کورتکس تمپورال،^{۲۹} کورتکس انتورینال^{۳۱} و نورون‌های هرمی کورتکس انتورینال^{۳۲} بیماران مبتلا به آلزایمر تغییری را نشان نداده است. تفاوت بین نتایج مطالعات مختلف می‌تواند به‌دلیل روش‌های متفاوت ارزیابی بیان ژن، مطالعه در محیط درون‌تنی، برون‌تنی، نمونه انسانی و یا حیوانی باشد.

البته نقش دو گانه ژن در رویارویی با شرایط استرسی و مرحله‌ای از بیماری آلزایمر که در آن بررسی صورت می‌گیرد، نیز دارای اهمیت است. افزایش سطح بیان ژن تحت استرس حاد از افزایش سنتز کلسترول و افزایش سطح غشایی آن منتج می‌شود، البته، سطح پروتیین سلادین-یک در مواجهه طولانی‌مدت با استرس به زیر سطح پایه تنزل می‌کند. کاهش بیان ژن بخشی دیگر از مکانیسم حفاظتی را

نمی‌باشد، پایش تغییرات سطح سرمی پروتیین S100 β به‌واسطه ارتباط با تغییرات ژن سلادین-یک هیپوکامپ می‌تواند به‌عنوان شاخص صدمه نورونی در بیماران مبتلا به آلزایمر مفید واقع شود. *سیاسگزاری*: نتایج این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب ۱۳۸۹-۰۴-۸۷-۱۱۷۳۶ دانشگاه علوم پزشکی تهران می‌باشد که با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی انجام شده است.

مداخلات درمانی و بهبود روند بیماری در بیماری‌های نورولوژیک و نوروسایکولوژیک مطرح می‌باشد.^{۱۱} نتایج مطالعه حاضر ارتباط معناداری را بین کاهش بیان ژن سلادین-یک هیپوکامپ و کاهش سطح سرمی پروتیین S100 β پس از تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین نشان داد. از آنجایی که سنجش شاخص‌های آسیب نورونی در بافت مغز به آسانی امکان‌پذیر

References

- Lu X, Kambe F, Cao X, Kozaki Y, Kaji T, Ishii T, et al. 3 β -Hydroxysteroid- Δ 24 Reductase Is a Hydrogen Peroxide Scavenger, Protecting Cells from Oxidative Stress-Induced Apoptosis. *Endocrinology* 2008;149(7):3267-73.
- Wisniewski T, Newman K, Javitt NB. Alzheimer's disease: brain desmosterol levels. *J Alzheimers Dis* 2013;33(3):881-8.
- Sarajärvi T, Haapasalo A, Viswanathan J, Mäkinen P, Laitinen M, Soininen H, et al. Down-regulation of seladin-1 increases BACE1 levels and activity through enhanced GGA3 depletion during apoptosis. *J Biol Chem* 2009;284(49):34433-43.
- Greeve I, Hermans-Borgmeyer I, Brellinger C, Kasper D, Gomez-Isla T, Behl C, et al. The human DIMINUTO/DWARF1 homolog seladin-1 confers resistance to Alzheimer's disease-associated neurodegeneration and oxidative stress. *J Neurosci* 2000;20(19):7345-52.
- Iivonen S, Hiltunen M, Alafuzoff I, Mannermaa A, Kerokoski P, Puolivali J, et al. Seladin-1 transcription is linked to neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 2002;113(2):301-10.
- Liang WS, Dunckley T, Beach TG, Grover A, Mastroeni D, Ramsey K, et al. Altered neuronal gene expression in brain regions differentially affected by Alzheimer's disease: a reference data set. *Physiol Genomics* 2008;33(2):240-56.
- Donato R, Sorci G, Riuzzi F, Arcuri C, Bianchi R, Brozzi F, et al. S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal. *Biochim Biophys Acta* 2009;1793(6):1008-22.
- Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol* 2001;33(7):637-68.
- Van Eldik LJ, Wainwright MS. The Janus face of glial-derived S100B: beneficial and detrimental functions in the brain. *Restor Neurol Neurosci* 2003;21(3-4):97-108.
- Rothermundt M, Peters M, Prehn JH, Arolt V. S100B in brain damage and neurodegeneration. *Microsc Res Tech* 2003;60(6):614-32.
- Chaves ML, Camozzato AL, Ferreira ED, Piazenski I, Kochhann R, Dall'Igna O, et al. Serum levels of S100B and NSE proteins in Alzheimer's disease patients. *J Neuroinflammation* 2010;7:6.
- Griffin WS, Sheng JG, Royston MC, Gentleman SM, McKenzie JE, Graham DI, et al. Glial-neuronal interactions in Alzheimer's disease: the potential role of a 'cytokine cycle' in disease progression. *Brain Pathol* 1998;8(1):65-72.
- Javed H, Khan MM, Ahmad A, Vaibhav K, Ahmad ME, Khan A, et al. Rutin prevents cognitive impairments by ameliorating oxidative stress and neuroinflammation in rat model of sporadic dementia of Alzheimer type. *Neuroscience* 2012;210:340-52.
- Sharma M, Gupta Y. Intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats produces both oxidative stress in the brain and cognitive impairment. *Life Sci* 2001;68(9):1021-9.
- Mehla J, Pahuja M, Gupta YK. Streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's disease: selection of appropriate dose. *J Alzheimers Dis* 2013;33(1):17-21.
- Lannert H, Hoyer S. Intracerebroventricular administration of streptozotocin causes long-term diminutions in learning and memory abilities and in cerebral energy metabolism in adult rats. *Behav Neurosci* 1998;112(5):1199-208.
- Duelli R, Schröck H, Kuschinsky W, Hoyer S. Intracerebroventricular injection of streptozotocin induces discrete local changes in cerebral glucose utilization in rats. *Int J Dev Neurosci* 1994;12(8):737-43.
- Grünblatt E, Salkovic-Petrisic M, Osmanovic J, Riederer P, Hoyer S. Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. *J Neurochem* 2007;101(3):757-70.
- Salkovic-Petrisic M, Osmanovic-Barilar J, Brückner MK, Hoyer S, Arendt T, Riederer P. Cerebral amyloid angiopathy in streptozotocin rat model of sporadic Alzheimer's disease: a long-term follow up study. *J Neural Transm* 2011;118(5):765-72.
- Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 2nd ed. Sydney: Academic Press; 1986.
- Brown RE, Corey SC, Moore AK. Differences in measures of exploration and fear in MHC-congenic C57BL/6J and B6-H-2K mice. *Behav Genet* 1999;29(4):263-71.
- Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc* 2008;3(6):1101-8.
- Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Hosseinzadeh S. Mefenamic acid attenuates intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive deficits in the rat: a behavioral analysis. *Iran J Pharmacol Ther* 2007;6(1):45-9.
- Sapcanin A, Sofic E, Tahirovic I, Salkovic-Petrisic M, Hoyer S, Riederer P. Antioxidant capacity in rat brain after intracerebroventricular treatment with streptozotocin and alloxan: a preliminary study. *Neurotox Res* 2008;13(2):97-104.
- Vanmierlo T, Bloks VW, van Vark-van der Zee LC, Rutten K, Kerkisiek A, Friedrichs S, et al. Alterations in brain cholesterol metabolism in the APPSLxPS1mut mouse, a model for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2010;19(1):117-27.
- Hosseinzadeh S, Zahmatkesh M, Heidari M, Hassanzadeh GR, Karimian M, Sarrafnejad A, et al. Hippocampal DHCR24 down regulation in a rat model of streptozotocin-induced cognitive decline. *Neurosci Lett* 2015;587:107-12.
- Zu H, Wu J, Zhang J, Yu M, Hong Z. Testosterone up-regulates seladin-1 expression by iAR and PI3-K/Akt signaling pathway in C6 cells. *Neurosci Lett* 2012;514(1):122-6.
- Blalock EM, Geddes JW, Chen KC, Porter NM, Markesbery WR, Landfield PW. Incipient Alzheimer's disease: microarray correlation analyses reveal major transcriptional and tumor suppressor responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(7):2173-8.

29. Sharpe LJ, Wong J, Garner B, Halliday GM, Brown AJ. Is seladin-1 really a selective Alzheimer's disease indicator? *J Alzheimers Dis* 2012;30(1):35-9.
30. Blalock EM, Buechel HM, Popovic J, Geddes JW, Landfield PW. Microarray analyses of laser-captured hippocampus reveal distinct gray and white matter signatures associated with incipient Alzheimer's disease. *J Chem Neuroanat* 2011;42(2):118-26.
31. Dunckley T, Beach TG, Ramsey KE, Grover A, Mastroeni D, Walker DG, et al. Gene expression correlates of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2006;27(10):1359-71.
32. Liang WS, Dunckley T, Beach TG, Grover A, Mastroeni D, Ramsey K, et al. Altered neuronal gene expression in brain regions differentially affected by Alzheimer's disease: a reference data set. *Physiol Genomics* 2008;33(2):240-56.
33. Wu C, Miloslavskaya I, Demontis S, Maestro R, Galaktionov K. Regulation of cellular response to oncogenic and oxidative stress by Seladin-1. *Nature* 2004;432(7017):640-5.
34. Kuehnle K, Cramer A, Kälén RE, Luciani P, Benvenuti S, Peri A, et al. Prosurvival effect of DHCR24/Seladin-1 in acute and chronic responses to oxidative stress. *Mol Cell Biol* 2008;28(2):539-50.
35. Vicente E, Degerone D, Bohn L, Scornavaca F, Pimentel A, Leite MC, et al. Astroglial and cognitive effects of chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Brain Res* 2009;1251:204-12.
36. Peskind ER, Griffin WS, Akama KT, Raskind MA, Van Eldik LJ. Cerebrospinal fluid S100B is elevated in the earlier stages of Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 2001;39(5-6):409-13.
37. Tanaka Y, Marumo T, Omura T, Yoshida S. Relationship between cerebrospinal and peripheral S100B levels after focal cerebral ischemia in rats. *Neurosci Lett* 2008;436(1):40-3.
38. Netto CB, Portela LV, Ferreira CT, Kieling C, Matte U, Felix T, et al. Ontogenetic changes in serum S100B in Down syndrome patients. *Clin Biochem* 2005;38(5):433-5.
39. Tramontina F, Conte S, Gonçalves D, Gottfried C, Portela LV, Vinade L, et al. Developmental changes in S100B content in brain tissue, cerebrospinal fluid, and astrocyte cultures of rats. *Cell Mol Neurobiol* 2002;22(3):373-8.
40. Portela LV, Tort AB, Schaf DV, Ribeiro L, Nora DB, Walz R, et al. The serum S100B concentration is age dependent. *Clin Chem* 2002;48(6 Pt 1):950-2.
41. Solfrizzi V, D'Introno A, Colacicco AM, Capurso C, Todarello O, Pellicani V, et al. Circulating biomarkers of cognitive decline and dementia. *Clin Chim Acta* 2006;364(1-2):91-112.
42. Li Y, Wang J, Sheng JG, Liu L, Barger SW, Jones RA, et al. S100 beta increases levels of beta-amyloid precursor protein and its encoding mRNA in rat neuronal cultures. *J Neurochem* 1998;71(4):1421-8.

The correlation of serum S100 β protein levels and hippocampal Seladin-1 gene expression in a rat model of sporadic Alzheimer's disease

Soheila Hosseinzadeh Ph.D.^{1,2*}
Maryam Zahmatkesh Ph.D.¹
Gholam-Reza Hassanzadeh Ph.D.^{1,3}
Morteza Karimian Ph.D.^{1,4}
Mansour Heidari Ph.D.⁵
Mahmoud Karami Ph.D.⁶

1- Department of Neuroscience, School of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Neuroscience Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.

3- Department of Anatomy, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4- Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

5- Department of Medical Genetics, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

6- Department of Animal Science, Chaloos Branch, Islamic Azad University, Chaloos, Iran.

* Corresponding author: Neuroscience Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.
Tel: +98- 11- 32199592-6
E-mail: hoseinzadeh_soheila@yahoo.com

Abstract

Received: 11 Jan. 2015 Accepted: 05 Aug. 2015 Available online: 08 Oct. 2015

Background: Seladin-1 protein protects the neural cells against amyloid beta toxicity and its expression decreased in vulnerable regions of Alzheimer's disease (AD) brains. On the other hand, changes in serum levels of S100 β have been considered as a marker of brain damage in neurodegenerative diseases. Furthermore, this study was carried out to determine the relation between the change profile of serum S100 β protein levels and hippocampal Seladin-1 gene expression in a rat model of sporadic AD.

Methods: In this experimental study that established in Department of Neuroscience, School of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Science, from March 2011 to April 2013, 72 animals were randomly divided into control, 4, 7, 14, and 21 days ICV-STZ/Saline administrated rats. Alzheimer's model was induced by intracerebroventricular (ICV) injections of streptozotocin (STZ) [3 mg/kg] on days 1 and 3. Serum levels of S100 β and hippocampal Seladin-1 gene expression were evaluated in experimental groups. The initial and step-through latencies (STL) were determined using passive avoidance test.

Results: Serum levels of S100 β were significantly different between the STZ-7 day and STZ-14 day groups in comparison with the control, saline and STZ-4 day groups. As well as, there was a significant difference between the STZ-7 day group in comparison with the STZ-14 day and STZ-21 day groups (P=0.0001). Hippocampal Seladin-1 gene expression in STZ-14 day and STZ-21 day groups significantly decreased as compared to the control, saline and STZ-4 day groups (P=0.0001). However, significant correlation was detected between serum S100 β protein decrement and Seladin-1 down regulation (P=0.001). Also, the STL was significantly decreased in 21 days ICV-STZ administrated rats as compared to the control or saline groups (P=0.001).

Conclusion: Monitoring the changes of serum S100 β protein levels by relationship with changes in hippocampal Seladin-1 gene expression can be a useful indicator of neuronal damage in patients with Alzheimer's disease.

Keywords: alzheimer disease, hippocampus, seladin-1, streptozotocin, S100 β .