بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه یزد

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد زیست شناسی-ژنتیک

بررسی جهش‌ها در اگزون ۲۲ ژن *SCN4A* در بیماران ایرانی با سندرم میوتونی

استاد راهنما: دکتر محمد مهدی حیدری

اساتید مشاور: دکتر مهری خاتمی، دکتر شهریار نفیسی

پژوهش و نگارش:

فائزه حسامی ذکائی

مهر ماه ۱۳۹۲

کلیه‌ی حقوق مادی و معنوی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان‌نامه/ رساله متعلق به دانشگاه یزد است و هرگونه استفاده از نتایج علمی و عملی از این پایان نامه / رساله برای تولید دانش فنی، ثبت اختراع، ثبت اثر بدیع هنری، همچنین چاپ و تکثیر، نسخه برداری، ترجمه و اقتباس و ارائه مقاله در سمینارها و مجلات علمی از این پایان‌نامه / رساله منوط به موافقت کتبی دانشگاه یزد است.

تقدیم

به مقدستترین واژه ها در لغت نامه دلم مادر مهربانم که زندگیم را مدیون مهر و عطوفت آن می دانم؛

به پدر عزیزم، مهربانی مشفق، بردبار و حامی همیشگیم،

همسرم به پاس قدردانی از قلبی آکنده از عشق و معرفت که محیطی سرشار از امنیت و آرامش را برایم فراهم آورده است.

تقدیر و تشکر از:

از اساتید محترم و گرانقدر آقای دکتر محمد مهدی حیدری و آقای دکتر شهریار نفیسی و خانم دکتر مهری خاتمی که بدون راهنمایی‌های ایشان این پژوهش انجام نمی‌گرفت تشکر می‌کنم.

چکیده

بیماری ارثی کانال‌های یونی، ناهنجاری‌های نادر عضلات اسکلتی هستند. میوتونی خصوصیت رایج اما نه همیشگی این بیماری‌ها است. میوتونی غیر دیستروفیک در اثر ناهنجاری در عملکرد کانال‌های سدیم، کلراید و کلسیم ایجاد می شود. جهش در ژن کد کننده زیر واحد α کانال سدیم حساس به ولتاژ (*SCN4A*) و ژن کد کننده کانال کلراید (*CLCN1*) با تغییر در تحریک‌پذیری سارکولما، با گروهی از بیمارها که از لحاظ بالینی با هم همپوشان هستند، مرتبط می‌باشد.

در این پژوهش ۲۸ بیمار ایرانی با میوتونی غیر دیستروفیک به منظور بررسی اگزون ۲۲ ژن SCN4A و اگزون ۸ ژن *CLCN1*، با تکنیک PCR-SSCP مورد بررسی قرار گرفتند و الگوهای دارای شیفت باندی تعیین توالی شدند.

بررسی‌ها در اگزون ۲۲ ژن *SCN4A*، منجر به یافتن، یک جهش در موقعیت ژنی 29073G>C در یکی از بیماران شد. این جهش باعث تغییر اسیدآمینه گلایسین به آلانین در کدان ۱۳۰۶ می شود. این جهش در موقعیت لوپ سیتوپلاسمی بین دمین III و IV زیرواحد α کانال سدیم حساس به ولتاژ قرار گرفته است. در بررسی اگزون ۸ ژن *CLCN1* بیماران، جهشی شناسایی نشد.

با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات گذشته و نتایج همردیفی چندگانه می‌توان نتیجه گرفت که کدان ۱۳۰۶ در طی تکامل در بین موجودات حفاظت شده است و همچنین شواهد نشان می‌دهد گلایسین ۱۳۰۶ حفاظت شده، در ناحیه‌ای از پروتئین قرار گرفته که از نظر عملکردی مهم است. در واقع لوپ سیتوپلاسمی بین دمین III و IV از طریق مسدود کردن دهانه داخلی کانال، برای غیر فعال شدن سریع کانال نقش حیاتی دارد .

لغات کلیدی: میوتونی غیر دیستروفیک، جهش، ژن *SCN4A*، ژن *CLCN1*، آنالیز SSCP

فهرست مطالب

فصل اول:مقدمه ۱

۱-۱میوتونی غیر دیستروفیک..... ۲

۱-۲ساختار و نقش کانال‌های یونی:..... ۴

۱-۳فیزیولوژی عضلات:..... ۶

۱-۴کانال‌های یونی وابسته به لیگاند: ۸

۱-۵کانال یونی حساس به ولتاژ:..... ۹

۱-۵-۱کانال‌های یون کلسیم:..... ۱۰

۱-۵-۱-۱ژن‌های کدکننده :.. ..... ۱۳

۱-۵-۱-۲ناهنجاری‌ها:..... ۱۵

۱-۵-۲کانال یون کلراید:..... ۱۷

۱-۵-۲-۱ناهنجاری‌ها:..... ۲۰

۱-۵-۲-۲درمان:..... ۲۴

۱-۵-۳کانال یون سدیم:..... ۲۴

۱-۵-۳-۱ژن‌های کد کننده:..... ۲۴

۱-۵-۳-۲ناهنجاری‌ها:..... ۲۸

۱-۶واکنش زنجیره‌ای پلیمراز:..... ۳۴

۱-۷روش‌های کاربردی در شناسایی جهش‌ها: ۳۷

۱-۷-۱روش **SSCP** : ۳۷

۱-۸تعیین توالی:..... ۳۸

۱-۹همردیفی چندگانه:..... ۴۰

۱-۱۰مروری بر مطالعات گذشته:.... ..... ۴۱

۱-۱۱اهداف..... ۴۵

فصل دوم: مواد و روش کار ۴۷

۲-۱جمع آوری نمونه:..... ۴۸

۲-۲محلول‌ها و بافرها:..... ۵۱

۲-۲-۱الکل ۷۵٪..... ۵۱

۲-۲-۲بافر TBE 10x. ۶۱
۲-۲-۳ EDTA (pH=8) ۰/۵ مولار ۵۱
۲-۲-۴آمونیوم پرسولفات ۵۲
۲-۲-۵اتیدیوم بروماید (mg/ml) ۱۰ : ۵۲
۲-۲-۶لودینگ بافر PCR: ۵۲
۲-۲-۷لودینگ بافر SSCP : ۵۳
۲-۲-۸تهیه ژل پلی اکریل آمید۴۰٪: ۵۳
۲-۲-۹محلول NaOH جهت رنگ‌آمیزی: ۵۳
۲-۳شرایط نگهداری و استخراج DNA سلول : ۵۳
۲-۴تکنیک PCR: ۵۵
۲-۵آنالیز (SSCP): ۵۹
۲-۵-۱تهیه ژل پلی آکریل آمید ۸٪: ۵۹
۲-۵-۲آماده سازی نمونه‌ها: ۶۰
۲-۵-۳رنگ آمیزی ژل پلی‌آکریل آمید: ۶۱
فصل سوم: نتایج ۶۳
۳-۱نتایج حاصل از بررسی محصولات PCR : ۶۴
۳-۲نتایج حاصل از آنالیز SSCP و تعیین توالی ۶۵
۳-۲-۱نتیجه بررسی ها برروی اگزون ۲۲ ژن ***SCN4A*** : ۶۵
۳-۲-۲نتیجه بررسی‌ها بر روی اگزون ۸ ژن ***CLCN1*** : ۶۷
۳-۳نتایج حاصل از نرم افزار polyphen-2: ۶۷
فصل چهارم:بحث ۶۹
نتیجه‌گیری ۹۲
پیشنهادات ۹۳
فهرست منابع: ۸۳
Abstract ۱۰۰
ضمایم ۱۰۱

فهرست شکل‌ها

۱-۱ کانال‌های یونی عصب حرکتی و عضلات اسکلتی.....۷

۱-۲ نمایی از گیرنده‌های نیکوتینیک اسید.....۹

۱-۳ محل برخورد کانال‌های کلسیم رتیکولوم سارکوپلاستیک و توبول‌های T.....۱۲

۱-۴ تصویر شماتیک از گیرنده هموتترامریک ریانودین.....۱۳

۱-۵ زیرواحدهای کانال کلسیم حساس به ولتاژ.....۱۵

۱-۶ یک مدل توپولوژی غشایی از مونومر کانال clc1.....۱۸

۱-۷ نمایی از ساختار همودایمر کانال کلراید.....۱۹

۱-۸ شمایی از دروازه سریع و آهسته کانال کلراید.....۱۹

۱-۹ شمایی از زیرواحدα کانال سدیم حساس به ولتاژ.....۲۶

۱-۱۰ شمایی از ۳ وضعیت کانال سدیم که همزمان با دپلاریزاسیون باز شده و سپس از طریق غیرفعال شدن سریع بسته می‌شود. رپولاریزاسیون غشا با غیر فعال شدن کانال شروع می‌شود و منجر به ترمیم از حالت غیر فعال میشود (وضعیت استراحت).....۲۷

۱-۱۱ نمایش تعدادی از جهش‌های نقطه‌ای در زیرواحد α کانال سدیم حساس به ولتاژ.....۳۱

۱-۱۲ تصویری شماتیک از تکنیک SSCP ۳۷

۱-۱۳ نمایی از روند تعیین توالی به روش ختم زنجیره.....۳۹

۳-۱ نمایی از محصولات PCR اگزون ۲۲ ژن *SCN4A*.....۶۴

۳-۲ نتایج حاصل از PCR اگزون ۸ ژن *CLCN1* ۶۴

۳-۳ نتیجه حاصل از تکنیک SSCP اگزون ۲۲ ژن *SCN4A*. نمونه ۳ دارای شیفت باندی است، نمونههای ۱-۷ افراد بیمار فاقد شیفت باندی هستند، نمونه‌های ۸-۱۴ کنترل‌های سالم هستند.....۶۵

۳-۴ شجره‌نامه خانواده بیمار شماره ۳. فلش فرد مورد مطالعه را نشان می‌دهد.....۶۶

۳-۵ نتیجه تعیین توالی کنترل سالم ۶۶

۳-۶ نتیجه تعیین توالی فرد بیمار (۳) دارای شیفت باندی.....۶۶

۳-۷ نتیجه حاصل از تکنیک SSCP اگزون ۸ ژن *CLCN1*. نمونه‌های ۱-۵ افراد بیمار فاقد شیفت باندی، نمونه‌ها ۶-۹ افراد کنترل سالم هستند.....۶۷

۳-۸ نتیجه حاصل از polyphen-2..... ۶۸
۴-۱ محل تغییر اسیدآمینه کدون ۱۳۰۶ در لوپ سیتوپلاسمی بین دمین III و IV ۷۲
۴-۲ نتیجه همردیفی چندگانه قسمتی از توالی اسیدآمینه‌ای کانال سدیم حساس به ولتاژ....۷۳
۴-۳ ساختار اسیدآمینه گلایسین..... .....۷۳
۴-۴ ساختار اسیدآمینه آلانین..... .....۷۳
۴-۵ مدل کلاهک و لولا برای غیر فعال شدن سریع کانال سدیم.....۷۴

فهرست جداول

۱-۱ شماری از جهش‌های ژن *CLCN1* عمل میوتونی کانجنیتا.....۲۳

۱-۲ برخی از جهش‌های زیرواحد α کانال یدیم حساس به ولتاژ به همراه فنوتیپ.....۳۳

۱-۳ خلاصه‌ای از چنلوپاتی کانال سدیم حساس به ولتاژ و ویژگی‌هایشان.....۳۴

۲-۱ خلاصه‌ای از خصوصیات بیماران.....۴۹

۲-۲ توالی جفت پرایمر مورد استفاده در PCR اگزون ۲۲ ژن *SCN4A* ۵۵

۲-۳ توالی جفت پرایمر مورد استفاده در PCR اگزون۸ ژن *CLCN1* ۵۵

۲-۴ برنامه دمایی جهت PCR اگزون ۲۲ ژن *SCN4A* ۵۶

۲-۵ برنامه دمایی جهت PCR اگزون ۸ ژن *CLCN1* ۵۶

۲-۶ لیست مواد مورد استفاده در PCR اگزون ۲۲ ژن *SCN4A* ۵۷

۲-۷ لیست مواد مورد استفاده در PCR اگزون ۸ ژن *CLCN1* ۵۷

فصل اول:

مقدمه

۱-۱ میوتونی غیر دیستروفیک

سیگنال‌های الکتریکی در عملکرد نورون‌ها، سلول‌های عضلانی ومیوسیت‌های قلبی نقش حیاتی دارند. پروتئین‌هایی که سیگنال‌های الکتریکی و تحریک پذیری غشا را در این سلول‌ها تنظیم می‌کنند کانال‌های یونی هستند و جهش در این کانال‌های یونی ممکن است منجر به چندین ناهنجاری شود (۱). بنابراین تعجب‌آور نیست که کانال‌های یونی در بیماریزایی عضلات اسکلتی درگیر باشند (۲). میوتونی غیر دیستروفیک در اثر ناهنجاری در عملکرد کانال‌های سدیم، کلراید و کلسیم ایجاد می‌شود (۳).

بیماری‌های ارثی کانال های یونی[1] گروهی از ناهنجاری‌های غشای عضلات اسکلتی تحریک پذیر هستند که با گرفتگی عضلات و یا ضعف متناوب تشخیص داده می شوند. این بیماری‌ها از طریق تحریک پذیری افزایش یافته (میوتونی) و یا تحریک پذیری کاهش یافته (فلجی)[2] یا هر دو مشخص می‌شوند (۴). میوتونی غیر دیستروفیک به علت فقدان ضعف پیشرونده و علائم سیستمیک از میوتونی دیستروفیک قابل تمایز است (۵). شیوع جهانی این ناهنجاری تقریبا ۱ در هر ۱۰۰،۰۰۰ نفر تخمین زده شده است، اگرچه شیوع این بیماری بسته به منطقه جغرافیایی متفاوت است (۶). برای مثال، تنها برای میوتونیا کامجنیتا در منطقه اسکاندیناوی شیوعی بین ۷ تا ۱۰ در هر ۱۰۰،۰۰۰ نفر تخمین زده شده است (۷, ۸). علائم بالینی اصلی میوتونی غیر دیستروفیک گرفتگی عضلانی است، بعلاوه سایر علائم رایج آن شامل درد ،ضعف و خستگی می‌باشد (۹, ۱۰).

از لحاظ بالینی، میوتونی از طریق تاخیر در به آرامش رسیدن عضلات در پی انقباض ارادی یا تحریکات مکانیکی مثل ضربه تشخیص داده می‌شود. در بیشتر موارد بعد از اولین انقباض عضلانی به طور مثال حرکت بعد از استراحت و نشستن طولانی مدت ظهور می کند، و معمولا با تکرار فعالیت عضلانی تخفیف حدت می‌یابد؛ که آن را پدیده warm up می‌نامند. از نظر الکتروفیزیولوژی، میوتونی اختلال در تحریک‌پذیری طبیعی غشا عضلات اسکلتی است (۱۱).

[1] Channelopathy
[2] Paralysis

عوامل محیطی در شروع حملات و بدترشدن علائم مهم هستند و این عوامل شامل تغییر در سطح پتاسیم سرم، کاهش دما و تغییر فعالیت عضلانی می‌باشد (۱۲). در مقایسه، پارامیوتونی بالافاصله بعد از تحرک ناگهانی ظهور می‌یابد و با تکرار و ادامه فعالیت و یا قرار گرفتن در معرض سرما بدتر می‌شوند (۱۳).

معمولا انواع میوتونی غیر دیستروفیک از نظر الگوی وراثت، پاسخ به تحریکات (سرما، مصرف پتاسیم، ورزش و درمان دارویی)، خصوصیات تشخیصی الکتریکی، جهش‌های ژنتیکی و مشخصات می‌توانند متفاوت باشند (۱۴). پاسخ به تست سرما یا ورزش می‌تواند در طبقه‌بندی میوتونی غیر دیستروفیک مفید باشد. تست ورزش کوتاه و طولانی[1] یک قسمت از تشخیص الکتریکی بیماران با میوتونی است که ممکنه در اثبات تفاوت بین انواع میوتونی مفید باشد (۱۵). در تست ورزش طولانی بیمار حداکثر به مدت ۴-۵ دقیقه عضلات دستش را منقبض می‌کند این تست با دوره‌های استراحت به طول ۱۵-۲۰ ثانیه همراه است. طی تست ورزش، طول و دامنه پتانسیل عمل ترکیبی عضلات (CMAP)[2] تجزیه وتحلیل می شود. تست ورزش کوتاه نیز به صورت مشابه‌ای انجام می‌شود در ۵-۱۰ ثانیه عضله دست منقبض شده و طی آن CMAP بررسی می شود. تست ورزش و سرما، هر دو در تشخیص میوتونی غیر دیستروفیک دارای محدودیت هستند. و ممکن است بعضی از افرادی که فاقد علائم بالینی و یا دارای میوتونی ملایم هستند و در عین حال دارای جهش‌های شناخته شده‌ای باشند در این افراد تست ورزش و سرما در تشخیص بیماری مفید نخواهد بود (۱۶).

میوتونی غیر دیستروفیک را فلج دوره‌ای نیز می‌نامند (۱۷) و ضعف اغلب با تغییر در سطح پتاسیم سرم همراه است و این مسئله باعث شکل‌گیری یک طبقه‌بندی مرسوم به دو گروه افزایش پتاسیم[3] و کاهش پتاسیم[4] می‌شود. این ناهنجاری‌ها با دپولاریزاسیون سارکولمای عضلانی در هنگام اپیزودهای ضعف، همراه است. در هر گروه دپولاریزاسیون با افزایش جریان سدیم ایجاد می‌شود (۱۸).

[1] Long and short exercise test
[2] Compound muscle action potential
[3] hyperkalemic
[4] hypokalemic

۱-۲ ساختار و نقش کانال‌های یونی:

کانال‌های یونی پروتئین‌های سرتاسر غشایی هستند که به یون‌ها اجازه می‌دهد تا به داخل و خارج سلول جریان یابند که نقش‌های کلیدی در همه سلول‌های واقعی انسان ایفا می‌کنند. همچنین کانال‌ها به صورت حیاتی برای عملکرد طبیعی بافت‌های تحریک‌پذیر مانند سیستم عصبی و عضلات مهم هستند. تقسیم بندی‌های متنوعی از کانال‌های یونی وجود دارد. یکی از این تقسیم بندی‌ها، کانال‌ها را بر اساس چگونگی فعال شدن به دو گروه کانال‌های حساس به ولتاژ و کانال‌های حساس به لیگاند تقسیم‌بندی می‌کند. بیشتر کانال‌های یونی دارای ساختار پایه مشابه هستند (۱۱).

کانال‌های غشایی هدایت کننده یون‌ها از طریق لیگاند و تغییرات ولتاژ (معمولا دپلاریزاسیون) باز می‌شوند و با غیر فعال شدن به تاخیر افتاده بسته می‌شوندکه همزمان با فعال شدن، آغاز می‌شود. اگر شرایط (زمان و ولتاژ) اجازه ترمیم از حالت غیر فعال را بدهد با قرار گرفتن مجدد در معرض لیگاند و یا تغییرات ولتاژ ممکن است منجر به باز و فعال شدن کانال شود. منفذ هدایت کننده یون‌ها، مانند اکثر کانال‌های حساس به ولتاژ، برای یک یون ویژه بسیار انتخابی است و یا منفذ هدایت کننده، کاتیون‌ها و یا آنیون‌ها را بدون میزان بالایی از انتخاب، مانند اکثر کانال‌های حساس به لیگاند، هدایت می‌کند. ساختار منفذ دارای فیلترهای انتخابی و دریچه‌های فعال و غیر فعال کننده هستند که میزان بالایی از حفاظت شده‌گی در طول تکامل را نشان می‌دهد و این موضوع موجب می‌شود رابطه بین ساختار و عملکرد کانال را استنباط کرد (۱).

همه سلول‌ها گرادیان غلظت یون‌های معدنی را بین داخل و خارج سلول حفظ می‌کنند. به عنوان مثال، یون پتاسیم در سیتوپلاسم نسبت به خارج سلول غلظت بالاتری دارد و یون‌های سدیم، کلراید و کلسیم توزیع متضادی دارند. احتمالا گرادیان غلظت یون‌ها، بر اساس فعالیت پروتئین‌های کانال‌های یونی که در غشا سلول قرار گرفته‌اند، سیستمی برای ایجاد سیگنال‌های الکتریکی فراهم می‌کند. کانال‌های یونی منفذها را ایجاد می‌کنند که به یون‌ها امکان انتقال سریع در میان غشای سلول‌ها را می‌دهد. کانال‌ها، یون‌ها را با سرعت ۱،۰۰۰،۰۰۰ تا ۱۰۰،۰۰۰،۰۰۰ یون

در ثانیه انتقال می‌دهند. این جریان یون‌ها، جریان الکتریکی 10^{-12} تا 10^{-10} آمپر در هر کانال ایجاد می‌کند. جریان‌ها به اندازه کافی بزرگ هستند که تغییرات سریع در پتانسیل غشا ایجاد کنند، پتانسیل الکتریکی بین داخل و خارج سلول متفاوت است. از آنجاکه یون‌های کلسیم و سدیم در خارج نسبت به داخل سلول غلظت بالاتری دارند، باز شدن این کانال‌ها باعث ورود این کاتیون‌ها به داخل سلول و دپلاریزاسیون غشا می‌شود. به دلایل مشابه زمانی که پتاسیم از میان کانال‌های باز از سلول خارج و یا کلراید وارد سلول می‌شوند، داخل سلول منفی‌تر و یا هایپر پلاریزه می‌شوند (۱۹).

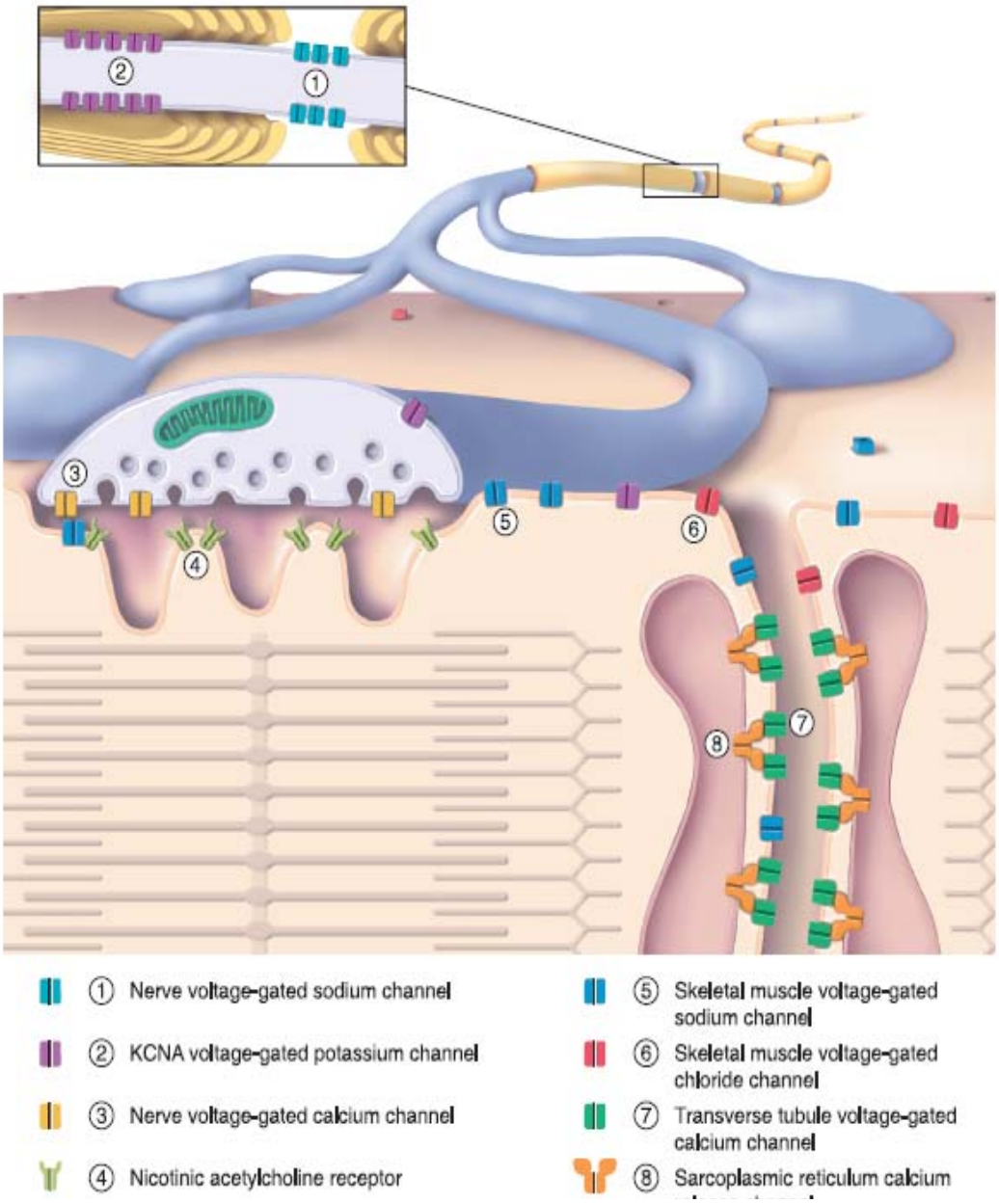
بیشتر کانال‌های یونی دریچه‌دار هستند و می‌توانند بین حالت رسانا و نارسانا گذر کنند. دریچه‌کانال‌ها می‌توانند از طریق لیگاند خارج سلولی، پیام‌های ثانویه داخل سلول و متابولیت‌ها، اثر متقابل پروتئین-پروتئین، فسفوریلاسیون و دیگر فاکتورها تحریک شوند. بعلاوه خیلی ازکانال‌های یونی از طریق سایر سیگنال‌های تنظیمی، پتانسیل غشا را تنظیم می کنند. کانال‌های یونی حساس به ولتاژ به تغییرات پتانسیل غشا ایجاد شده و کانال‌های یونی حساس به لیگاند در سیناپس‌ها به اتصال نوروترانسمیترها پاسخ داده و تغییرات را تعدیل می‌کنند (۱۹).

کلون‌های مولکولی شمار زیادی ژن کد کننده کانال‌های پروتئینی را آشکار کرده است. این مسئله در ابتدای تکامل شروع شده است. برای مثال ژنوم نماتود *Caenorhabditis elegans* شامل ۸۰ ژن کد کنند کانال پتاسیم، ۹۰ ژن کانال حساس به لیگاند، ۵ ژن کانال کلسیم حساس به ولتاژ، ۶ ژن کانال کلراید است (۲۰). این آمار، تعداد زیاد زیرواحدهای کمکی کانال‌ها را که در شکل‌گیری منفذ نقش ندارند، اما در انجام وظایف کانال مهم هستند، را شامل نمی‌شود. همولوگ قسمت بزرگی از ژن‌های کد کننده کانال‌های کرم قبلا در پستانداران پیدا شده بوده است. اما احتمالا علت وجود ژن‌های زیاد متفاوت کد کننده کانال‌ها منعکس‌کننده تنوعی از سیگنال‌های مورد نیاز است (۱۹).

۱-۳ فیزیولوژی عضلات:

اهمیت خصوصیات ویژه انواع کانال‌ها برای درک بهتر رفتار و تحریک‌پذیری سلول در سیناپس‌های عصب_عضله که سیگنال‌ها را از نورون حرکتی به عضلات اسکلتی انتقال می‌دهند، مهم می باشد. آکسون نورون حرکتی نخاع از ستون فقرات خارج می‌شود و مسیری به سمت عضلات می‌سازد، محلی که با فیبرهای عضلانی تماس برقرار می‌کند. کانال‌های یونی نقش کلیدی در انتقال سیگنال‌ها در طول عصب و از سطح عضله به سیستم‌های انقباضی دارند. حرکت سیگنال در طول آکسون، باعث باز شدن پی در پی کانال‌های سدیم حساس به ولتاژ (که امکان ورود سدیم خارج سلول به داخل سلول و دپلاریزاسیون پتانسیل غشا را می‌دهد) و کانال‌های پتاسیم (که امکان خروج پتاسیم از سلول و رپولاریزاسیون را می‌دهد) می‌شود(۱۹).

رسیدن پتانسیل عمل به انتهای عصبی، کانال‌های کلسیم حساس به ولتاژ را فعال کرده و باعث می‌شود یون کلسیم وارد انتهای عصبی شود و در نهایت باعث آزاد شدن نوروترانسمیتر به فضای سیناپسی می شود. سپس نوروترانسمیتر آزاد می‌شود، استیل کولین به گیرنده نیکوتینی استیل کولینی که کانال کاتیونی وابسته به لیگاند می‌باشد متصل شده، و باعث ورود یون سدیم به داخل سلول و دپلاریزاسیون غشای سلول عضلانی در محل سیناپس، جایی که گیرنده‌های استیل کولینی تجمع یافته‌اند، می‌شود. این دپلاریزاسیون موضعی منجر به فعال شدن کانال‌های سدیم حساس به ولتاژ مجاور می‌شود و در نتیجه باعث گسترش پتانسیل عمل از سطح فیبرهای عضلانی به غشای پلاسمایی و توبول‌های متقاطع (transverse)، (جایی‌که تراکم بالایی از کانال‌های کلسیم وجود دارد) می‌شود. کانال‌های کلسیم T توبول‌ها، از نظر فیزیکی نزدیک کانال‌های آزاد کننده کلسیم هستند در غشای رتیکولوم سارکوپلاستیک قرار دارد.



شکل ۱-۱:کانال‌های یونی عصب حرکتی و عضلات اسکلتی (۱۹)

پتانسیل عمل باعث می شود کانال‌های کلسیم T توبول دچار تغییرات کونفورماسیون شده و کانال‌های کلسیم شبکه سارکوپلاسمی باز می‌شوند. یون‌های کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی به سیتوپلاسم جریان یافته و منجر به انقباض عضلانی می شود. کانال‌های کلراید قرارگرفته در T توبول‌ها و سطح عضلات به حالت آرامش باز می‌گردد. جهش ها در اکثر مولکول‌های کانال‌های کلیدی به طور قابل توجهی یافت شده‌اند و باعث ناهنجاری های عصب-عضله می شود (۱۹).

۱-۴ کانال‌های یونی وابسته به لیگاند:

این کانال‌ها در پاسخ به عوامل خارج سلولی باز می شوند، اما اگر این عوامل خارجی مشخص و واضح نباشند کانال غیر حساس می شود. این فرایند آنالوگ غیر فعال شدن کانال‌های حساس به ولتاژ است. ۳ خانواده از کانال‌های وابسته به لیگاند شناسایی شده است:

۱) ابر خانواده گیرنده نیکوتینیک (شامل GABA، گلایسین، سروتونین، نیکوتینیک استیل کولین)

۲) خانواده گیرنده گلوتامات

۳)گیرنده ATP

بیماری کانال‌های یونی فقط در گیرنده‌های GABA، گلایسین و نیکوتین استیل کولین و همه اعضای ابر خانواده نیکوتینیک اسید مشاهده شده است. این کانال‌ها پنتامریک هستند که هر زیر واحد شامل ۴ دمین سرتاسر غشایی است. هر دو انتهای C و N پروتئین در خارج سلول قرار دارند.

گیرنده‌های نیکوتین و سروتونرژیک از کاتیون‌های تک ظرفیتی انتخاب می کنند و بعضی حتی نسبت به کلسیم نفوذپذیر هستند. از جهت دیگر گیرنده‌های گلایسین و گابا برای آنیون‌های کوچک، انتخابی عمل می‌کنند و نسبت به هر دو یون کلر و بیکربنات نفوذ پذیر هستند (۲۱). چندین نوع از گیرنده‌های نیکوتینیکی در مغز پستانداران شناسایی شده است، که در دو گروه قرار می‌گیرند: هتروپنتامرها، این گروه به صورت چشمگیری از زیرواحدهای α_4 و β_2 تشکیل شده‌اند، و هموتترامرها به‌خصوص α_7 برای باز شدن کانال نیاز به اتصال به دو مولکول استیل‌کولین دارد. رزیدوهایی که در اتصال به لیگاندها نقش دارند در چندین جایگاه از انتهای N زیرواحد α قرار دارند. گیرنده $\alpha_4\beta_2$ نسبت به گیرنده هموتترامر α_7، تمایل بیشتری برای اتصال به استیل کولین دارد که این امر بیانگر این مطلب است که زیرواحد β در اتصال لیگاند به زیرواحد α نقش دارد (۲۱).