تغییرات وابسته به سن برخی نروتروفین های مغز و فعالیت لوکوموتور در یک مدل حیوانی

دکتر ثریا خیروری: استادیار و متخصص علوم تغذیه، گروه تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. kheirouris@tbzmed.ac.ir

***دکتر محمد علی زاده**: استادیار و متخصص علوم تغذیه، گروه علوم و صنایع غذائی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران (*نویسنده مسئول). mdalizadeh@tbzmed.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۴ تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: شواهد متعددی وجود دارند که هر گونه تغییری در سطح نوروتروفین‌ها می‌تواند با نمو، تکامل و عملکرد مغز در ارتباط باشد. با این حال، اطلاعات موجود در خصوص توزیع و بیان نوروتروفین‌ها در سامانه‌ی عصبی و در طول عمر بسیار محدود و ناکامل می‌باشد. در این مطالعه تجربی، فعالیت لوکوموتوری و تغییرات سطح عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (Brain Derived Neurotropic Factor–BDNF) و عامل رشد عصبی (Nerve Growth Factor -NGF) در نواحی منتخب مغز موش های بالغ مورد تحقیق قرار گرفت.

روش کار: در این مطالعه تجربی، دوازده سر موش بالغ ۴ و ۶ ماهه مورد استفاده قرار گرفتند و فعالیت حرکتی آزمودنی‌ها با استفاده از جعبه باز تعیین شد. سپس تحت بیهوشی عمیق، بافت‌های هیپوکامپ، قشرمخ رویین هیپوکامپ و مخچه حیوانات جدا شده و میزان پروتئین تام و پروتئین های BDNF و NGF از عصاره بافت‌های مذکور اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: موش‌های ۶ ماهه به طور معنی‌داری بیش فعال بودند. با افزایش سن از ۴ ماه به ۶ ماه، یک کاهش چشمگیر در سطح NGF هیپو کامپ (۳۵/۷٪ ، p=۰/۰۰۲)، قشرمخ (۳۱/۸٪ ، p=۰/۰۱۲)، مخچه (۵۱/۸٪ ، p=۰/۰۰۱) و در سطح BDNF هیپو کامپ (۱۱/۲٪)، قشرمخ (۲۹/۶٪) مشاهده گردید. اما سطح BDNF در مخچه به میزان ۲/۲۵ برابر (p=۰/۰۰۳) افزایش یافت. در موش های ۴ ماهه هیپوکامپ بیشترین مقدار BDNF را نشان داد.

نتیجه گیری: این نتایج بیانگر این هستند که کاهش مستمر پروتئین‌های BDNF و NGF در مغز می‌تواند در نمو و تکامل مغز دوران بلوغ دخیل باشند.

کلیدواژه‌ها: BDNF، NGF، تکامل مغز، هیپوکامپ، قشر مخ، مخچه.

مقدمه

فاکتور رشد عصبی (Nerve Growth -NGF Factor) و عامل نوروتروفیک مشتق شده از مغز (Brain Derived Neurotrophic Factor-BDNF) به گروهی از پروتئین‌ها تعلق دارند که تحت عنوان نوروتروفین‌ها خوانده شده اند. این مولکول ها در حفظ بقاء (۱)، تکامل و عملکرد نرون ها (۲) دخالت دارند و قادر به پیام‌دهی (Signaling) سلول‌های خاص برای بقاء، تمایز یا رشد آن‌ها می‌باشند(۳). نوروتروفین‌ها مواد شیمیایی هستند که به تحریک و کنترل نروژنز کمک می‌کنند و در هیپوکامپ، مخ، مخچه و ناحیه بازال مغز پیشین که نواحی حیاتی برای یادگیری، حافظه و تفکر عالی باشند فعالند (۷-۴). گزارش شده است القاء پیام دهی نوروتروفین‌ها یک مکانیسم مهم درگیر در پلاستیسیته سیناپسی و در نتیجه سلامت نرون‌ها است (۸).

توزیع و بیان نوروتروفین‌ها در سراسر سامانه‌ی عصبی و در طول عمر همگن نبوده(۹) و همواره در حال تغییر می‌باشد (۱۲-۱۰). ثابت شده که هر گونه تغییری در سطح نوروتروفین‌ها می‌تواند در نمو و تکامل مغز دخیل باشد (۱۳و۱۴). از این رو در سال‌های اخیر میزان علاقمندی به مطالعه‌ی سطح نوروتروفین‌ها در مراحل مختلف زندگی به طور فزاینده‌ای افزایش یافته است.

اساساً زندگی بعد از تولد به سه دوره مشخص کودکی، بلوغ و پیری تقسیم می‌شود. در پستانداران سطح نوروتروفین‌ها به صورت

مقایسه‌ای بین این سه مرحله زندگی به طور گسترده ای مطالعه شده است (۱۵). هرچند شواهدی وجود دارد که سطح نوروتروفین‌ها در درون یک دوره نیز می‌تواند دستخوش تغییراتی شود، با این حال و بر اساس بررسی متون موجود این موضوع تاکنون کمتر مورد توجه قرار گرفته است. در واقع، مطالعات منتشر شده در این زمینه فقط به دوره کودکی محدود می‌باشد (۱۶و۱۷). با توجه به مطالب پیش گفت و از آنجایی که شواهد قابل توجهی بیان می‌دارند که در پستانداران بالغ، نوروتروفین‌ها عملکرد نرون‌ها را از بسیاری جنبه‌ها تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱۸و۱۹)، ارزیابی پروفایل تکاملی نوروتروفین‌ها در دوران بلوغ نیز ضروری به نظر می‌رسد. لذا، در این مطالعه تغییرات وابسته به سن، BDNF و NFG در نواحی منتخب موش‌های بالغ چهار و شش ماهه مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

این مطالعه تجربی آزمایشگاهی روی ۱۲ سر موش گونه‌ی ddY، جنس نر و عاری از پاتوژن انجام شد. حجم نمونه براساس توان آزمون ۹۰ درصد، حدود اطمینان ۹۵ درصد، انحراف معیار و میانگین متغیر BDNF در بافت هیپوکامپ مطالعات مشابه محاسبه شد.

حیوانات آزمودنی به مدت یک هفته و به منظور سازگاری با محیط پژوهش با رژیم غذایی معمول (کازئین ۲۰٪، شکر ۲۲/۴ ٪، نشاسته ذرت ۴۴/۶٪، روغن سویا ۵٪، سلولز ۲٪، مخلوط مینرال ۵٪، مخلوط ویتامین ۱٪) تغذیه شدند. دمای اتاق نگهداری حیوانات بین ۲۲-۲۰ درجه سانتی گراد ثابت نگهداری می‌شد. موش‌ها در چرخه روشنائی-تاریکی ۱۲ ساعته قرار داشتند. میزان رطوبت بین ۵۰ تا ۶۰ درصد تنظیم شده بود. همه حیوانات دسترسی آزاد و بدون محدودیت به غذای تصفیه شده با پایه‌ی کازئین و آب مقطر داشتند. ضمنا" تاییدیه انجام طرح از کمیته‌ی اخلاق اخذ شده بود.

فعالیت حرکتی حیوانات آزمودنی با استفاده از آزمون جعبه باز در پایان ماه چهارم (تعداد: ۶ سر) و ماه ششم (تعداد: ۶ سر) زندگی اندازه‌گیری شد. دستگاه از جنس پلکسی گلاس، به ابعاد ۵۰×۵۰×۳۰ سانتی‌متر بود که کف سیاه رنگ یکنواخت آن با خطوط سفید به ۲۵ مربع مساوی تقسیم شده بود. تمام آزمون‌ها در شرایط یکسان از نظر دما، رطوبت و زمان انجام شدند. در ابتدای هر آزمون موش‌ها به طور انفرادی در مرکز جعبه قرار داده شده و فعالیت‌های حرکتی شامل تعداد حرکات افقی (عبور از خطوط سفید)، حرکات عمودی (ایستادن روی دو پا)، Grooming (لیسیدن و تمیز کردن بدن)، تعداد دفعات ادرار و مدفوع کردن حیوان در یک دوره‌ی زمانی سه دقیقه‌ای ثبت گردید.

در دو مقطع زمانی، در پایان ماه چهارم و نیز پایان ماه ششم زندگی، تحت بی‌هوشی عمیق داخل صفاقی با استفاده از نمباتول حیوانات آزمودنی تشریح شدند. برای جداسازی بافت‌های مغز از روش توصیف شده توسط Cuello (۲۰) با پاره‌ای تغییرات استفاده شد. به طور اختصار، بعد از جداسازی سر از بقیه بدن و انجام برش طولی در جمجمه کل بافت نرم در روی یخ خشک قرار داده شد. ابتدا قشر مخ رویین هیپوکامپ از سایر بافت‌ها جدا شده و در مراحل بعدی به ترتیب بافت‌های هیپوکامپ و مخچه آزاد شده و تا زمان اندازه‌گیری در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس هر کدام از نمونه‌های بافتی بعد از افزودن بافر لیز کننده محتوی ۱۳۷ میلی مول کلریدسدیم، ۲۰ میلی مول بافر Tris-HCl ، ۱٪ از NP40 (سیگما)، ۱۰ درصد گلیسرول، ۱۰ میکروگرم/میلی لیتر آپروتینین(سیگما)، ۰/۵ میلی‌مول ارتووانادات سدیم به مدت ۳۰ ثانیه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس با استفاده از بافر نمک فسفات دالبکو رقیق سازی نمونه ها انجام و سانتریفیوژ مجددا" انجام شد.

به منظور یکسان سازی تراکم بافت در نمونه‌ها، میزان پروتئین تام بافتی با استفاده از اسید بیسینکونینیک (Bicinchoninic acid) در مقایسه با آلبومین سرم گاو، به عنوان پروتئین مرجع، اندازه‌گیری و نتایج با استفاده از دستگاه طیف‌سنج

در طول موج ۵۶۲ نانومتر قرائت شد.

میزان تام BDNF و NGF در سه بافت منتخب مغز با استفاده از کیت شرکت پرومگا (Madison، WI، USA، شماره سیستم به ترتیب G7611 و G7631 و حساسیت ۱۵/۶ و ۷/۸ پیکوگرم در میلی لیتر) مطابق دستور سازندگان بر حسب پیکوگرم در میلی‌گرم پروتئین اندازه‌گیری شد. به عنوان آنتی بادی اولیه از آنتی بادی پلی کلونال ضد BDNF و برای شستشو از بافر Tric-HCl با ۰/۰۵٪ توئین ۲۰، و به عنوان آنتی بادی ثانویه از IgG ضد رت کونژوگه شده با HRP استفاده شد. نتایج بعد از اضافه شدن سوبسترا و توقف واکنش با استفاده از اسید کلریدریک در طول موج ۴۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الیزا (مدل Corona Electric MTP-34) قرائت شد.

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند (Mean ± SD). نتایج با p<۰/۰۵ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای مقایسه میانگین‌ها از نرم افزار آماری SPSS (نگارش ۱۱)، آزمون تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد. برای هر یک از متغیرها ابتدا تحلیل واریانس دو طرف با اندازه‌گیری‌های تکراری انجام شد و با توجه به این که اثر متقابل مربوط به زمان و بافت مورد بررسی معنی‌دار بود، در تعقیب این تحلیل دو سری آزمون انجام شد: ۱) آزمون t زوجی برای مقایسه زمان‌های ۴ و ۶ ماه به تفکیک هر بافت و ۲) تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه میانگین گروه‌ها در هر یک از زمان‌های مورد بررسی.

یافته‌ها

میانگین فعالیت حرکتی حیوانات آزمودنی در مقطع سنی شش ماهگی در مقایسه با گروه جوان‌تر به طور معنی‌داری بالاتر بود (p=۰/۰۰۱). میانگین و انحراف معیار فعالیت های حرکتی در پایان چهار ماهگی برای مورد حرکات افقی (Walking) و حرکات عمودی (Rearing) به ترتیب معادل ۲۶/۲ ± ۷۵/۴ و ۸/۶ ± ۱۳/۶ و در پایان شش ماهگی به ترتیب معادل ۴۲/۴ ± ۱۴۸/۶و ۷/۷ ± ۳۵/۰ بود (جدول ۱).

با توجه به نتایج جدول آنالیز واریانس دوطرفه (جدول ۲)، فاکتور زمان و نوع بافت هر کدام به تنهایی بر میزان ترشح نوروتروفین‌ها موثر هستند و اثر متقابل این دو فاکتور نیز بر ترشح نوروتروفین‌ها معنی‌دار بود.

از طرف دیگر، میزان BDNF در گروه با طول عمر بیشتر در هیپوکامپ و قشر مخ به ترتیب ۱۱/۲ و ۲۹/۶ درصد نسبت به گروه جوان‌تر کاهش یافته بود (جدول ۳). همچنین، با افزایش سن از چهار ماه به شش ماه میزان BDNF اندازه‌گیری شده در بافت مخچه با فاصله‌ی معنی‌داری به میزان ۱۲۵/۶ درصد افزایش یافته بود (p=۰/۰۰۳).

همچنان که در جدول ۳ نشان داده شده است، مقایسه میانگین عیار NGF در هیپوکامپ، قشر مخ و مخچه در برش سنی پایان شش ماه با پایان چهار ماهگی به ترتیب بیانگر کاهشی معادل ۳۵/۷ درصد (p=۰/۰۰۲)، ۳۱/۸ درصد (p=۰/۰۱۲) و ۵۱/۸ درصد (p=۰/۰۰۱) بود.

در مقایسه میانگین عیار BDNF به تفکیک هرکدام از برش‌های سنی و بین بافت‌های سه‌گانه‌ی منتخب نیز تغییرات معنی‌داری پیدا شد.

جدول ۱- وضعیت فعالیت حرکتی حیوانات در انتهای ماه چهارم و ششم زندگی

شاخص	پایان ماه چهارم	پایان ماه ششم
حرکات افقی (تعداد)	۲۶/۲ ± ۷۵/۴	۴۲/۴ ± ۱۴۸/۶*
حرکات عمودی (تعداد)	۸/۶ ± ۱۳/۶	۷/۷ ± ۳۵/۰**
مدت لیسیدن بدن (ثانیه)	۱/۶ ± ۳/۰	۵/۷ ± ۳/۳
دفعات ادرار	۰/۴ ± ۰/۲	۰
دفعات مدفوع	۱/۵ ± ۱/۸	۰/۹ ± ۰/۴

داده ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

* معنی دار در سطح ۰/۰۵ و ** معنی دار در سطح ۰/۰۱ می باشد.

جدول ۲- آنالیز واریانس دوطرفه مربوط به فاکتورهای زمان ونوع بافت بر روی ترشح نروتروفین

	منبع تغییرات	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	F	معناداری
NGF[a]	اندازه‌گیری در ۴ و ۶ ماهگی	۳۹۴۶۷/۸۵۲	۱	۳۹۴۶۷/۸۵۲	۱۰۱/۹۳۴	۰/۰۰۰
	اثر متقابل زمان و نوع بافت	۵۰۸۵/۱۱۴	۲	۲۵۴۲/۵۵۷	۶/۵۶۷	۰/۰۰۹
	خطا	۵۸۰۷/۸۷۸	۱۵	۳۸۷/۱۹۲	–	–
BDNF[b]	اندازه گیری در ۴ و ۶ ماهگی	۴۴۲/۹۲۴	۱	۴۴۲/۹۲۴	۱/۷۱۹	۰/۲۱۰
	اثر متقابل زمان و نوع بافت	۴۹۸۴/۶۰۵	۲	۲۴۹۲/۳۰۲	۹/۶۷۱	۰/۰۰۲
	خطا	۳۸۶۵/۶۵۸	۱۵	۲۵۷/۷۱۱	-	–

جدول ۳- میزان BDNF[a] و NGF[b] در مناطق مختلف مغز در انتهای ماه چهارم و ششم زندگی

مناطق	BDNF (پروتئین pg/mg)		NGF (پروتئین pg/mg)	
	ماه چهارم	ماه ششم	ماه چهارم	ماه ششم
هیپوکامپ	۷۲/۱ ± ۳۰/۳	۶۴ ±۱۲	۱۴۳/۴ ± ۲۷	**۹۲/۲ ±۱۵/۶
قشر مخ	۳۷/۲ ±۱۱/۷	۲۶/۲ ± ۵/۱	۱۵۲/۱ ± ۲۰/۱	*۱۰۳/۸ ±۱۸/۱
مخچه	۳۲ ±۱۰/۹	**۷۲/۲ ±۱۵/۲	۱۹۲/۵ ± ۴۲	**۹۲/۷ ± ۳۲/۵

داده ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده و با آزمون تی تحلیل شده اند.

* معنی دار در سطح ۰/۰۵ ، ** معنی دار در سطح ۰/۰۱ می باشد.

[a] عامل نروتروفیک مشتق شده از مغز (Brain- derived neurotrophic factor)

[b] فاکتور رشد عصبی (Nerve growth factor)

در مقطع سنی پایان چهار ماهگی، سطح BDNF هیپوکامپ حدود دو برابر مخ (۴۸/۴ درصد، p=۰/۰۲۱) و نیز مخچه (۵۵/۶ درصد، p=۰/۰۰۳) بود. در مقطع سنی پایان ۶ ماهگی میزان BDNF هیپوکامپ و مخچه تقریباً برابر بوده، اما سطح BDNF هیپوکامپ و مخچه به ترتیب ۲/۴ (۵۹/۱ در صد، p=۰/۰۰۰) و ۲/۷۵ (۶۳/۷ در صد، p=۰/۰۰۰) برابر قشر مخ بود.

در مقطع سنی پایان چهار ماه تفاوت معنی‌داری در میزان NGF در هیپوکامپ و کورتکس به دست نیامد. با این حال، عیار این نوروتروفین در مخچه در مقایسه با هیپوکامپ ۲۵/۵درصد (p=۰/۰۳۸) و در مقایسه با قشر مخ ۲۱ درصد بالاتر بود. در پایان شش ماهگی هر سه بافت مورد مطالعه توزیع یکسانی از نظر سطح NGF بافتی داشتند و هیچ گونه تفاوت معنی‌داری در عیار نوروتروفین بین سه منطقه‌ی آزموده شده از بافت مغزی مشاهده نشد (جدول ۳).

بحث و نتیجه گیری

در بین پروتئین های مختلف خانواده نوروتروفین‌ها، BDNF و NGF مهم‌ترین نقش را در تکامل سامانه‌ی عصبی ایفا می‌کنند. این مولکول‌ها بر بخش مهمی از کارکرد سامانه‌ی عصبی تاثیرگذار بوده و میزان آن‌ها با نوسانات کارکرد شناختی وابسته به سن ارتباط دارد.

پژوهش حاضر با استفاده از مدل حیوانی به بررسی دامنه‌ی تغییرات سطح BDNF و NGF در نقاط منتخب مغز در مقطع بعد از بلوغ پرداخته است. براساس این یافته‌ها، میزان NGF در هر سه قسمت مورد مطالعه از مغز، شامل مخ، مخچه و هیپوکامپ و میزان BDNF در مخ و هیپوکامپ با افزایش سن به طور معنی داری با کاهش روبرو شده است.

هرچند این یافته با نتایج سایر مطالعات تا اندازه زیادی هم سوئی دارد ولی غالب گزارشات موجود، بر مقطع سنی حول و حوش تولد و بعد از آن استوار بوده‌اند. به عنوان مثال، Das KP و همکاران با مطالعه در موش‌ها گزارش کرده‌اند که سطح نوروتروفین‌ها با افزایش سن در نئوکورتکس و هیپوکامپ کاهش می‌یابد. آن‌ها دریافتند که NGF وBDNF به ترتیب در روزهای هفت و چهارده بعد از تولد به اوج مقدار قابل اندازه‌گیری می‌رسند (۱۷). حداقل دو مطالعه دیگر نیز که به طور جداگانه در استراتیوم موش و مغز میانی موش‌ها انجام شده است کاهش BDNF متناسب

با افزایش سن را گزارش داده‌اند (۱۱و۱۶).

بر اساس پژوهش‌های انسانی در کودکان و نوجوانان معلوم شده است که BDNF با افزایش سن کاهش می‌یابد. به عنوان مثال، سطح BDNF در مردان بالغ به طور معناداری کمتر از دوران قبل از بلوغ بوده است (۲۱). در ادامه‌ی گزارش‌های فوق و بر اساس یافته های پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که تغییرات سطح دو مولکول نوروتروفین مورد مطالعه بعد از بلوغ نیز ادامه می‌یابد. یافته‌های مطالعه حاضر با نتایج مطالعه‌ی Bimonte-Nelson HA و همکاران در سال ۲۰۰۸ در مورد کاهش BDNF هیپوکامپ در موش‌های هفت ماهه در مقایسه با موش‌های در مقطع سنی چهار ماهگی هم خوانی داشته و در مورد افزایش در NGF در همان مقطع سنی و همان قسمت مورد بررسی مغایرت دارد (۲۲). شاید دلیل این مغایرت این باشد که در مطالعه نلسون اندازه‌گیری نوروتروفین‌ها فقط از هیپوکامپ راست، آن هم در نواحی CA1 و CA2 صورت گرفته، در حالی که در مطالعه حاضر کل هیپوکامپ‌های چپ وراست مورد استفاده قرار گرفتند.

بر اساس گزارش های متعدد نوروتروفین‌ها و نیز گیرنده‌های اختصاصی آن‌ها در مخچه‌ی در حال تکامل، در مدل‌های تجربی حیوانی، افزایش می یابند. همچنین، شواهدی وجود دارند که بر افزایش سطح BDNF به موازات تکامل مخچه دلالت دارند (۲۵-۲۳). مجموع این یافته‌ها می‌توانند به منزله‌ی اهمیت قابل توجه این مولکول در فرآیند تکامل مخچه تلقی شود. لذا، یافته‌ی پژوهش حاضر در خصوص سطح بالاتر BDNF در مخچه حیوانات آزمودنی مسن‌تر می‌تواند بسیار جالب توجه باشد.

براساس یافته‌های آزمون سنجش میانگین سطح فعالیت لکوموتور(Locomotor activity) موش‌های گروه سنی شش ماهه بیشتر از موش‌های متعلق به گروه سنی چهار ماهه فعالیت حرکتی داشتند. در مطالعات قبلی نشان داده شده است که BDNF بر کنش‌های رفتاری تاثیر گذار است و حذف این مولکول بعد از تولد باعث بیش فعالی می‌شود (۲۶و۲۷). لذا بر اساس نتایج این مطالعات، بیش فعال بودن حیوانات گروه سنی ۶ ماهه را می‌توان به کاهش سطح BDNF در قشر مخ (مرکز فعالیت‌های حرکتی) این حیوانات نسبت داد. با این حال مکانیزمی که به واسطه‌ی آن چگونگی تاثیر BDNF بر نوسانات رفتاری و سطح فعالیت‌های حرکتی توضیح داده شود، تاکنون ناشناخته باقی مانده است. با توجه به اهمیت این نوروتروفین در انتقال عصبی وابسته به سروتونین (۳۰-۲۸)، بررسی‌های دقیق تر با استفاده از آزمودنی‌های فراریخته برای مشخص کردن این فرآیند ممکن است سودمند باشد.

در مطالعه حاضر، بیشترین مقدار اندازه‌گیری شده BDNF در بافت هیپوکامپ به دست آمد که با یافته‌ی سایر محققین هم خوانی دارد (۳۱و۳۲). با در نظر گرفتن یافته‌های مشابه (۳۱و۳۲) به نظر می رسد این یافته می‌تواند به تایید این فرضیه که BDNF نقش محوری در پلاستیسیته سیناپسی در هیپوکامپ دارد، کمک نماید.

در خاتمه، مطالعه حاضر روشن می‌سازد که سطح اندازه‌گیری شده هر دو نوروتروفین در دوران بعد از بلوغ نیز ثابت نبوده و تغییر می‌کند. با در نظر گرفتن نقش کلیدی نوروتروفین‌ها در بسیاری از جنبه‌های کارکردی سامانه‌ی عصبی به ویژه در مورد بقاء و تمایز سلول‌های عصبی و نیز در کارکرد یادگیری و حافظه افزایش دانش و آگاهی در مورد ویژگی‌های متابولیک و عملکردی NGF و BDNF و ارتباط آن با کارکرد طبیعی عصبی و نیز روانی ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

1. Hempstead BL. Dissecting the diverse actions of pro- and mature neurotrophins. Curr Alzheimer Res. 2006;3(1):19-24.
2. Reichardt LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2006;361(1473):1545-64.
3. Allen SJ, Dawbarn D. Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. Clin Sci (Lond). 2006;110(2):175-91.
4. Rattiner LM, Davis M, Ressler KJ. Brain-derived neurotrophic factor in amygdala-dependent

learning. Neuroscientist. 2005;11(4):323-33.
5. Yamada K, Nabeshima T. Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in memory processes. J Pharmacol Sci. 2003;91(4):267-70.
6. Iwasaki Y, Negishi T, Inoue M, Tashiro T, Tabira T, Kimura N. Sendai virus vector-mediated brain-derived neurotrophic factor expression ameliorates memory deficits and synaptic degeneration in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. J Neurosci Res. 2012; 90(5):981- 9.
7. Samartgis JR, Schachte L, Hazi A, Crowe SF. Brain-derived neurotrophic factor facilitates memory consolidation and reconsolidation of a weak training stimulus in the day-old chick. Neurosci Lett. 2012;516(1):119-23.
8. Yeh CM, Huang CC, Hsu KS. Prenatal stress alters hippocampal synaptic plasticity in young rat offspring through preventing the proteolytic conversion of pro-brain-derived neurotrophic factor (BDNF) to mature BDNF. J Physiol 2012;590(Pt 4):991-1010.
9. Katoh-Semba R, Wakako R, Komori T, Shigemi H, Miyazaki N, Ito H, et al. Age-related changes in BDNF protein levels in human serum: differences between autism cases and normal controls. Int J Dev Neurosci. 2007;25(6):367-72.
10. Zermeño V, Espindola S, Mendoza E, Hernández-Echeagaray E. Differential expression of neurotrophins in postnatal C57BL/6 mice striatum. Int J Biol Sci. 2009;5(2):118-27.
11. Numan S, Gall CM, Seroogy KB. Developmental expression of neurotrophins and their receptors in postnatal rat ventral midbrain. J Mol Neurosci. 2005;27(2):245-60.
12. Mori T, Takumi K, Shimizu K, Oishi T, Hayashi M. Heterogeneity of the developmental patterns of neurotrophin protein levels among neocortical areas of macaque monkeys. Exp Brain Res. 2006;171(1):129-38.
13. Wong J, Webster MJ, Cassano H, Weickert CS. Changes in alternative brain-derived neurotrophic factor transcript expression in the developing human prefrontal cortex. Eur J Neurosci. 2009;29(7):1311-22.
14. Molteni R, Lipska BK, Weinberger DR, Racagni G, Riva MA. Developmental and stress-related changes of neurotrophic factor gene expression in an animal model of schizophrenia. Mol Psychiatry. 2001;6(3):285-92.
15. Karege F, Schwald M, Cisse M. Postnatal developmental profile of brain-derived neurotrophic factor in rat brain and platelets. Neurosci Lett. 2002; 328(3):261-4.
16. Zermeño V, Espindola S, Mendoza E, Hernández-Echeagaray E. Differential expression of neurotrophins in postnatal C57BL/6 mice striatum. Int J Biol Sci. 2009;5(2):118-27.
17. Das KP, Chao SL, White LD, Haines WT, Harry GJ, Tilson HA, Barone S Jr. Differential patterns of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNA and protein levels in developing regions of rat brain. Neuroscience. 2001;103(3):739-61.
18. Usui N, Watanabe K, Ono K, Tomita K, Tamamaki N, Ikenaka K, Takebayashi H. Role of motoneuron-derived neurotrophin 3 in survival and axonal projection of sensory neurons during neural circuit formation. Development. 2012;139(6):1125-32.
19. Patel AV, Krimm RF. Neurotrophin-4 regulates the survival of gustatory neurons earlier in development using a different mechanism than brain-derived neurotrophic factor. Dev Biol. 2012; 365(1):50-60.
2. Brain microdissection techniques IBRO handbook series. Christer: John Wiley & Sons. Cuello AC. 1983.
21. Iughetti L, Casarosa E, Predieri B, Patianna V, Luisi S. Plasma brain-derived neurotrophic factor concentrations in children and adolescents. Neuropeptides. 2011;45(3):205-11.
22. Bimonte-Nelson HA, Granholm AC, Nelson ME, Moore AB. Patterns of neurotrophin protein levels in male and female Fischer 344 rats from adulthood to senescence: how young is "young" and how old is "old"? Exp Aging Res. 2008;34(1):13-26.
23. Takumi K, Mori T, Shimizu K, Hayashi M. Developmental changes in concentrations and distributions of neurotrophins in the monkey cerebellar cortex. J Chem Neuroanat. 2005; 30(4):212-20.
24. The cerebellum and its disorders. Manto MU, Pandolfo M (Eds.); Cambridge University Press, Cambridge, UK: 2002. p. 309.
25. Gao WQ, Zheng JL, Karihaloo M. Neurotrophin-4/5 (NT-4/5) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) act at later stages of cerebellar granule cell differentiation. J Neurosci. 1995;15(4):2656-67.
26. Gray J, Yeo GS, Cox JJ, Morton J, Adlam AL, Keogh JM, et al. Hyperphagia, severe obesity, impaired cognitive function, and hyperactivity associated with functional loss of one copy of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene. Diabetes. 2006;55(12):3366-71.
27. Rios M, Fan G, Fekete C, Kelly J, Bates B, Kuehn R, et al. Conditional deletion of brain-derived neurotrophic factor in the postnatal brain leads to obesity and hyperactivity. Mol Endocrinol. 2001;15(10):1748-57.
28. Lyons WE, Mamounas LA, Ricaurte GA, Coppola V, Reid SW, Bora SH, et al. Brain derived neurotrophic factor-deficient mice develop aggressiveness and hyperphagia in conjunction with brain serotonergic abnormalities. Proc Natl Acad Sci USA. 1999;96(26):15239-44.
29. Martinowich K, Lu B. Interaction between

BDNF and serotonin: role in mood disorders. Neuropsychopharmacology. 2008;33(1):73-83.

30. Neumeister A, Yuan P, Young TA, Bonne O, Luckenbaugh DA, Charney DS et al. Effects of tryptophan depletion on serum levels of brain-derived neurotrophic factor in unmedicated patients with remitted depression and healthy subjects. Am J Psychiatry. 2005;162(4):805-7.

31. Nawa H, Carnahan J, Gall C. BDNF protein measured by a novel enzyme immunoassay in normal brain and after seizure: partial disagreement with mRNA levels. Eur J Neurosci. 1995;7(7):1527-35.

32. Mori T, Shimizu K, Hayashi M. Differential expression patterns of TrkB ligands in the macaque monkey brain. Neuroreport. 2004;15(16):2507-11.

Original Article

Age-related alteration in selected brain neurotrophins and locomotor activity in an animal model

Soraya Kheirouri, PhD. Assistant Professor of Nutrition, Department of Nutrition, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. kheirouris@tbzmed.ac.ir

***Mohammad Alizadeh, PhD.** Assistant Professor of Nutrition, Department of Nutrition, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran (*Corresponding author). mdalizadeh@tbzmed.ac.ir

Abstract

Background: Accumulative evidences suggest that any change in brain neurotrophins can be involved in brain development and function. However, little is known about age related alteration of the neurotrophins. In this experimental study, we investigated the adulthood changes in the locomotor activity and the levels of Nerve Growth Factor (NGF) and Brain Derived Neurotropic Factor (BDNF) in selected brain regions of mice.

Methods: In this experimental twelve adult mice at 4 and 6 months of age were used and open filed test was performed to determine animal's locomotor activity. Hippocampus, cerebellum and cortex of the animals were isolated under deep anesthesia, and levels of NGF, BDNF and total protein were measured from extracts of tissues at the end of 4th and 6th months of age.

Results: Animals with 6 months of age were significantly hyperactive. We found a significant reduction for NGF in hippocampus (35.7%, p= 0.002), cerebral cortex (31.8%, p= 0.012), cerebellum (51.8%, p= 0.001) and for BDNF in hippocampus (11.2%), cerebral cortex (29.6%). However, BDNF level significantly increased in cerebellum (2.25 fold, p= 0.003) with age rising from four to six months. BDNF level were the highest in the hippocampus at the age of 4 months.

Conclusion: These results suggest that the sustained decrease of NGF and BDNF proteins in brain regions may be involved in the adulthood brain development.

Keywords: Brain derived neurotropic factor, Nerve growth factor, Brain development**,** Hippocampus, Cerebellum, Cortex.