اثر دپولاریزاسیون و عدم حضور یون کلسیم بر توزیع مس و روی در ۵ ناحیه مغز موش صحرایی نر

*سیدمعظم مرتضوی I
دکتر محسن آنی II
دکتر منوچهر مصری‌پور III

چکیده

در بسیاری از اختلالات مربوط به سیستم اعصاب از جمله آلزایمر، ویلسون و بیماری پیک، تغییراتی در غلظت یون‌های مس و روی در سلول‌های عصبی ایجاد می‌شود. از آن جا که میزان یون‌های داخل سلولی بر پولاریزاسیون و دپولاریزاسیون نورون‌ها موثر بوده و بررسی ارتباط این یون‌ها و شرایط پولاریزاسیون و دپولاریزاسیون از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد، در این پژوهش سیناپتوزوم‌های نواحی مختلف مغز(مخچه، هیپوتالاموس، استریتوم، مغز میانی و کورتکس) تهیه شد و میزان آزاد شدن مس و روی در شرایط دپولاریزاسیون یا کمبود کلسیم اندازه‌گیری گردید. در این مطالعه مداخله‌ای از موش صحرایی نر(Rat) استفاده شد بدین ترتیب که پس از کشتن موش‌ها مغز بلافاصله از جمجمه خارج شده و پس از جدا کردن نواحی مختلف طبق روش‌های معتبر آزمایشگاهی، سیناپتوزوم تهیه می‌گردید. سیناپتوزوم‌های به دست آمده در حضور یون پتاسیم ۵۵ میلی مولار(به عنوان شرایط دپولاریزاسیون) و نیز در حضور EGTA(به عنوان شلاتور کلسیم) انکوبه گردید. پس از پایان انکوباسیون سیناپتوزوم‌ها به طور مجدد رسوب داده شدند و پس از خاکستر کردن آن‌ها میزان مس و روی باقی‌مانده اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد که در حضور یون پتاسیم میزان مس باقی‌مانده در سیناپتوزوم‌های مربوط به مغز میانی و کورتکس بیش از گروه شاهد و مس و روی باقی‌مانده در نواحی مخچه، هیپوتالاموس و استریتوم کم‌تر از حالت شاهد بوده است. در همین شرایط میزان روی باقی‌مانده در ناحیه مخچه بیش از حالت شاهد مشاهده شد در حالی که نواحی هیپوتالاموس، مغز میانی استریتوم و کورتکس مقدار روی کم‌تری را نشان داد. در حضور EGTA مس موجود در نواحی مخچه، هیپوتالاموس و استریتوم بیش از حالت کنترل بود و در مغز میانی و کورتکس مقدار کم‌تری را نشان داد. در سیناپتوزوم‌های مخچه، استریتوم و کورتکس در حضور EGTA میزان روی بیش‌تری مشاهده شد در حالی که در هیپوتالاموس و مغز میانی میزان روی کم‌تر از حد طبیعی بوده است. نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که ارتباط نزدیکی بین فعالیت سلولی و میزان یون‌های مس و روی موجود در سلول‌های عصبی وجود دارد به طوری که اختلال در غلظت هر یک از آن‌ها می‌تواند موجب اختلال در فعالیت عصبی شده و مشکلات عصبی مختلفی را به وجود آورد.

کلیدواژه‌ها: ۱–مس ۲–روی ۳–کلسیم ۴–دپولاریزاسیون ۵–سیناپتوزوم

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان نامه آقای سیدمعظم مرتضوی جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد بیوشیمی به راهنمایی دکتر محسن آنی و دکتر منوچهر مصری‌پور، سال ۱۳۷۰.

I) کارشناس ارشد بیوشیمی و مربی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی کردستان(*مولف مسئول)
II) استاد گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی اصفهان.
III) استاد گروه بیوشیمی و فوق‌تخصص شیمی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی اصفهان.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

مقدمه

به دلیل اهمیت یون‌های مس و روی در مغز از جمله نقش یون مس به عنوان کوفاکتور آنزیم دوپامین بتاهیدروکسیلاز و اهمیت آن‌ها در تنظیم متابولیسم منوآمین‌ها، اندازه‌گیری مقدار طبیعی این یون‌ها مورد توجه قرار گرفته است.[۱] این مطلب در زمانی که آزاد شدن یون‌های مس و روی از فضاهای خارج سلولی طی تحریک برش‌های هیپوکامپ مغز موش صحرایی مشاهده گردید، مورد توجه قرار گرفت.[۲] در این رابطه نقش یون‌های روی و مس در تحریکات عصبی بررسی شد تا رابطه اختلالاتی مانند صرع اپی‌لپتیک، بیماری الزایمر، بیماری پیک و بیماری ویلسون با تغییرات سطح این یون‌ها در مغز مشخص شود.[۳] در جدیدترین تحقیقات نشان داده شده است که مبنای مولکولی بیماری آلزایمر دژنره شدن نورون‌ها به علت تجمع پپتیدهای نوروتوکسیک بتا آمیلوییدی است به طوری که تجمع این پپتیدها موجب افزایش سطح یون کلسیم داخل نورون شده و هر دو پدیده سبب آسیب در عمل‌کرد نورون‌ها می‌گردند.[٤]

افزایش یون روی در بیماری آلزایمر از آن جهت دارای اهمیت است که می‌تواند عامل تسریع کننده‌ای برای تجمع پپتیدهای بتا آمیلوییدی باشد.[٥] تحقیقات نشان داده‌اند که در تومورهای مغز مقدار یون‌های مس، روی، آهن و سلنیوم بیش از نواحی سالم مغز می‌باشد.[٦]

کاربرد سیناپتوزوم در مطالعات in vitro به علت مشابه بودن، مدل قابل قبولی در بررسی اعمال بیوشیمیایی مغز پستانداران و پدیده‌های دپولاریزاسیون و هیپرپلاریزاسیون بوده و در مطالعات مربوط به نوروترانسمیشن از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد.[۷، ۸ و ۹] از آن‌جا که ارتباط بسیار نزدیکی بین فعالیت سلول‌های عصبی و حضور کلسیم در محیط همراه با آزاد شدن عناصر مس و روی در فضای سیناپسی وجود دارد، در تحقیق حاضر سیناپتوزوم‌های نواحی مخچه، هیپوتالاموس، استریتوم، مغز میانی و کورتکس تهیه شد و تغییرات مربوط به یون‌های مس و روی به دنبال دپولاریزاسیون و نیز در غیاب کلسیم مورد بررسی قرار گرفت. از آن جا که بهترین روش برای تعیین مقدار یون‌های مس و روی در مطالعات in vitro روش جذب اتمی(Atomic Absorbtion) می‌باشد، در این تحقیق از آن استفاده گردید.[۱۰ و ۱] روشی که اخیراً برای تعیین مقدار این یون‌ها در مطالعات in vivo به کار برده شده است. روش Proton induced X ray emission می‌باشد که به طور خلاصه PIXE analysis نامیده می‌شود.[۱۱] هدف از انجام دادن این پژوهش مداخله‌ای، اندازه‌گیری میزان آزاد شدن مس و روی، در شرایط دپولاریزاسیون یا کمبود کلسیم بوده است.

روش بررسی

در این مطالعه مداخله‌ای که از نوع تجربی بود، تعداد ٥ موش صحرایی نر(۲۳۰-۱۸۰) مورد استفاده قرار گرفت. بدین ترتیب که پس از کشتن حیوانات، مغز آن‌ها روی یک طشت کوچک که روی پوره یخ قرار داشت گذاشته می‌شد و با استفاده از روش G lowinsky inversen، ٥ ناحیه مغز یعنی مخچه، هیپوتالاموس، مغز میانی، استریتوم و کورتکس به دقت جدا می‌گردید.

هر یک از نواحی ذکر شده به طور جداگانه در محلول سوکروز ۰/۳۲ مولار هموژنه و سیناپتوزوم‌ها با استفاده از روش اصلاح شده Both & Clark تهیه شد و[۱۲] غلظت پروتئین نمونه‌ها با متدلوری تعیین گردید.[۱۳] در این مطالعه با فرفسفات مورد استفاده(PH=۷/۳) حاوی H_2O، NaH_2Po_4 ۱۵ میلی‌مولار، ۲۵NaCl میلی‌مولار، $MgCl_2,6H_2O$ یک میلی‌مولار و گلوکز همراه با ۱ مولکول آب ۱۵ میلی‌مولار بود که توسط سود ٤ نرمال PH آن به دقت تنظیم گردید. تمام مواد شیمیایی در این مطالعه خالص و از شرکت مرک آلمان غربی خریداری شده بود.

سیناپتوزوم‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۷ درجه و در شرایط مختلف انکوبه گردید و پس از آن با استفاده از سانتریفوژ به طور مجدد رسوب داده شد و پس از تهیه خاکستر آن، در ۲ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۰/۰۱ نرمال حل گردید و یون‌های مس و روی با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل پرکین‌المر ۲۳۸۰ اندازه‌گیری شد. در این مطالعه با فرفسفات ۱۵

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

میلی‌مولار حاوی کلرور پتاسیم ۵۵ میلی‌مولار با PH=۷/۳ برای بررسی اثر دپولاریزاسیون و با فرفسفات ۱۵ میلی‌مولار و ۰/۱ میلی‌لیتر EGTA ۱۰ میلی‌مولار برای بررسی حذف اثر یون کلسیم به کار برده شد. حجم نهایی سوسپانسیون‌های سیناپتوزومی در هر بررسی ۱ میلی‌لیتر بود. اثر این عوامل مختلف یعنی حضور یون پتاسیم با غلظت ۵۵ میلی‌مولار(حالت دپولاریزاسیون) و حضور EGTA با غلظت ۱ میلی‌مولار(حذف اثر یون کلسیم) در مقایسه با حالت شاهد به صورت درصد کاهش(رها شدن) یا افزایش(باقی ماندن یون در سیناپتوزوم) گزارش گردید و به موازات لوله‌های تست، لوله‌های شاهد نیز در نظر گرفته شد که در آن‌ها سیناپتوزوم‌ها تنها در حضور بافر و بدون اضافه کردن مواد دیگر انکوبه گردید.

نتایج

نتایج حاصل از اثرات یون پتاسیم و نیز حذف یون کلسیم از محیط بر میزان مس و روی در سیناپتوزوم‌های به دست آمده از ۵ ناحیه مختلف مغز موش صحرایی نر در جدول‌های شماره ۱و ۲ آورده شده است.

ـ اثر دپلاریزاسیون بر میزان یون مس و روی در نواحی مختلف مغز: همان‌گونه که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود، در حضور یون پتاسیم میزان مس در سوسپانسیون سیناپتوزوم مغز میانی ۱۳۳٪ و کورتکس ۲۰٪ بیش از میزان شاهد بود در حالی که در مخچه ۶۵٪، هیپوتالاموس ۸۵٪ و استریتوم ۴۹٪ کم‌تر از میزان شاهد بوده است. این اختلافات از نظر آماری در مغز میانی (۰/۰۱) معنی‌دار مشاهده شد اما در مورد استریتوم و کورتکس معنی‌دار نبود. در حضور یون پتاسیم میزان روی موجود در سوسپانسیون سیناپتوزوم‌های مخچه ۱۹٪ بیش‌تر از میزان شاهد بود در حالی که در سیناپتوزوم‌های هیپوتالاموس ۲۵٪، مغز میانی ۳۲٪، استریتوم ۱۴٪ و کورتکس ۹٪ کم‌تر از میزان شاهد مشاهده شد که این اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نبوده است. نتایج به دست آمده در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول شماره ۱- اثر یون پتاسیم(۵۵ میلی‌مول) و EGTA(۱ میلی‌مول) بر میزان مس باقی‌مانده در سیناپتوزوم‌های به دست آمده از ۵ ناحیه مغز موش صحرایی(رات)

مناطق مختلف مغز موش صحرایی	کنترل	در حضور K^+		در حضور EGTA	
	غلظت مس میکروگرم/میلی‌گرم پروتئین	غلظت مس میکروگرم/میلی‌گرم پروتئین	درصد تغییرات	غلظت مس میکروگرم/میلی‌گرم پروتئین	درصد تغییرات
مخچه	۰/۸۲±۰/۱۴	۰/۲۸ ± ۰/۲	-۶۵**	۱/۲۷ ± ۰/۲۷	-۵۴
هیپوتالاموس	۳/۱۷ ± ۰/۸۶	۰/۴۶ ± ۰/۱۹	-۸۵*	۳/۹۹ ± ۰/۹۶	-۲۵
مغز میانی	۱/۴۴ ± ۰/۲۷	۳/۳۶ ± ۰/۲۶	+۱۳۳**	۱/۳۳ ± ۰/۱۹	-۷
استریتوم	۰/۷۱ ± ۰/۱۳	۰/۳۶ ± ۰/۰۸	-۴۹	۱/۱۹ ± ۰/۲۶	-۶۷
کورتکس	۰/۶۳ ± ۰/۰۹	۰/۷۶ ± ۰/۲۰	-۲۰	۰/۵۲ ± ۰/۱۳	-۱۷

*P<۰/۰۵، **P<۰/۰۱، در این جدول و جدول بعد هر کدام از اعداد SEM ± میانگین حاصل از ۳ بار آزمایش بوده که به صورت dulpicate انجام شده است. میزان کاهش با علامت(-) و افزایش با علامت(+) نشان داده شده است.

جدول شماره ۲- اثر یون پتاسیم(۵۵ میلی‌مول) و EGTA(۱ میلی‌مول) بر میزان روی باقی‌مانده در سیناپتوزوم‌های به دست آمده از ۵ ناحیه مغز موش صحرایی(رات)

مناطق مختلف مغز موش صحرایی	کنترل	در حضور K^+		در حضور EGTA	
	غلظت مس میکروگرم/میلی‌گرم پروتئین	غلظت مس میکروگرم/میلی‌گرم پروتئین	درصد تغییرات	غلظت مس میکروگرم/میلی‌گرم پروتئین	درصد تغییرات
مخچه	۰/۵۸±۰/۱۴	۰/۶۹ ± ۰/۰۲	+۱۹	۰/۷ ± ۰/۱۲	+۲۰
هیپوتالاموس	۳/۳۴ ± ۰/۲۴	۲/۴۹ ± ۰/۲۳	-۲۵	۱/۶ ± ۰/۰۰۶	-۵۲***
مغز میانی	۱/۲۶ ± ۰/۵۲	۰/۸۵ ± ۰/۱	-۳۲	۰/۵۸ ± ۰/۲۱	-۵۴
استریتوم	۰/۲۱ ± ۰/۰۵	۰/۱۸ ± ۰/۰۴	-۱۴	۱/۰۴ ± ۰/۳۸	-۳۹۵*
کورتکس	۰/۲۱ ± ۰/۰۵	۰/۱۹ ± ۰/۰۲	-۹	۰/۹۷ ± ۰/۲۰	-۳۶۱*

*P<۰/۰۵، ***P<۰/۰۱

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

ـ مطالعه حذف یون کلسیم: در حضور EGTA میزان مس موجود در سوسپانسیون سیناپتوزوم‌های مخچه ٥٤٪، هیپوتالاموس ٢٥٪ و استریتوم ٦٧٪ بیش‌تر از میزان شاهد بود در حالی که در مغز میانی ٧٪ و کورتکس ١٧٪ کم‌تر از میزان شاهد به دست آمد که این اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نبود(جدول شماره ١).

همان طور که مشاهده می‌شود تأثیر EGTA بر میزان مس موجود در سیناپتوزوم‌های نواحی مختلف مغز موش صحرایی بر خلاف اثر یون پتاسیم بوده است. در حضور EGTA میزان روی موجود در سیناپتوزوم‌های مخچه ٢٠٪، استریتوم ٣٥٩٪ و کورتکس ٣٦١٪ بیش‌تر از میزان شاهد بود در حالی که در هیپوتالاموس ٥٢٪ و مغز میانی ٥٤٪ کم‌تر از میزان شاهد بوده است که از نظر آماری این اختلاف‌ها در مورد هیپوتالاموس($P<0/001$) و کورتکس ($P<0/05$) معنی‌دار به دست آمد. این نتایج در جدول شماره ٢ آورده شده است و همان‌گونه که مشاهده می‌شود، تأثیر EGTA بر میزان روی در سیناپتوزوم‌های مخچه، هیپوتالاموس و مغز میانی با اثر یون پتاسیم هم‌سو می‌باشد در حالی که در مورد استریتوم و کورتکس این اثر برخلاف اثر یون پتاسیم بوده است.

بحث

در بررسی‌هایی که در شرایط in vitro با استفاده از برش‌های مغز یا سیناپتوزوم‌ها انجام می‌شود، جهت دست یافتن به شرایطی مشابه با دپلاریزاسیون نورون‌ها در شرایط invitro، معمولاً از غلظت بالای پتاسیم به عنوان عامل ایجاد کننده دپولاریزاسیون استفاده می‌گردد.[٣و ١٤]

همان گونه که در جدول شماره ١ مشاهده می‌شود در حضور غلظت بالای پتاسیم، کاهش غلظت مس در نواحی مخچه، هیپوتالاموس و استریتوم ایجاد می‌شود که نشان دهنده افزایش آزاد شدن مس از سیناپتوزوم‌های این نواحی است. گزارش‌های متعددی وجود دارند که نشان می‌دهند حالت دپولاریزاسیون سبب افزایش آزاد شدن مواد درون سلولی از پایانه اکسون‌های نورون‌های مغز می‌شود.[١٥و ١٦] از سوی دیگر ایجاد حالت دپولاریزاسیون in vitro در سیناپتوزوم‌های جدا شده از مغز میانی و کورتکس بر رهاسازی یون مس موثر نبود به طوری که میزان یون مس در سیناپتوزوم‌های این نواحی بیش از میزان شاهد بوده است. هر چند که نتایج به دست آمده در مورد سیناپتوزوم‌های کورتکس معنی‌دار نبود، بالاتر بودن مس در مغز میانی می‌تواند دارای اهمیت باشد.

از آن‌جا که دپولاریزاسیون در نواحی مختلف مغز با حساسیت‌های متفاوت صورت می‌گیرد[١٧و ١٨]، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که پاسخ نورون‌های مغز میانی و کورتکس به حالت دپولاریزاسیون با پاسخ نورون‌های مخچه، هیپوتالاموس و استریتوم متفاوت می‌باشد. این تفاوت ممکن است مربوط به پاسخ متفاوت کانال‌ها یا نوع کانال‌های پتاسیم یا چگونگی جابه‌جایی یون کلسیم داخل سلولی باشد. در یک مطالعه تفاوت‌های مربوط به کانال‌های پتاسیم بین جسم سلولی نورون و پایانه‌های عصبی به خوبی تعیین شده است.[١٩]

براساس یافته‌های به دست آمده افزایش یون کلسیم از ٢ راه صورت می‌گیرد. راه اول ورود(In flux) یون کلسیم خارج سلولی از طریق کانال‌های وابسته به ولتاژ موجود در غشای سلول و راه دوم رها و آزاد شدن(Release) ذخایر یون کلسیم از شبکه آندوپلاسمیک می‌باشد.[٢٠] اما اغلب تعیین منبع یون کلسیم مشکل است[٢٠] به طور کلی می‌توان گفت شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد رها شدن نوروترانسمیترها از سیناپتوزوم‌های مغز همراه با افزایش یون کلسیم داخل سلولی می‌باشد.[١٥] به دلیل همین اهمیت با به کار بردن EGTA در این مطالعه، نقش یون کلسیم در تغییرات یون مس و روی مورد بررسی قرار گرفت. EGTA به عنوان یک شلاتور یون کلسیم هنگامی که در سلول حضور داشته باشد از نفوذ(Penetration) و در دسترس قرار گرفتن یون کلسیم جلوگیری می‌کند.

مطالعه EGTA در جدول شماره ١ آورده شده است و براساس آن غلظت یون مس در سیناپتوزوم‌های مخچه،

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

هیپوتالاموس و استریتوم بیش از فعالیت شاهد بود. این نتایج نشان دهنده آن است که EGTA به خوبی می‌تواند یون‌های کلسیم را جمع‌آوری و شلاته کند و احتمالاً عدم نفوذ یون کلسیم سبب باقی ماندن یون مس در این نواحی و در نتیجه افزایش آن در سیناپتوزوم‌های مخچه، هیپوتالاموس و کورتکس می‌شود که این اثر مخالف اثر یون پتاسیم با غلظت ۵۵ میلی‌مولار بوده است. این مسئله می‌تواند دارای اهمیت باشد زیرا با توجه به گزارش‌های موجود در رابطه با افزایش یون مس در مغز مبتلایان به شیزوفرنی ممکن است در این بیماری اختلالاتی در نواحی مخچه، هیپوتالاموس و استریتوم در ارتباط با کانال‌های کلسیمی به وجود آمده باشد و یون‌های مس در این نواحی بیش‌تر تجمع یابند بنابر این نواحی ذکر شده دچار آسیب بیش‌تری می‌شوند. در مطالعات قبلی نیز نشان داده شده است که فعالیت کانال‌های پتاسیم توسط یون کلسیم تنظیم می‌گردد.[۲۱] شواهدی نیز به نفع وجود حداقل ۲ نوع کانال پتاسیمی وابسته به یون کلسیم در پایانه‌های عصبی وجود دارد.[۱۸] با توجه به یافته‌های این تحقیق در رابطه با تغییر میزان یون مس، پیشنهاد می‌شود که در درمان این بیماران به داروهایی که این کانال‌ها را تنظیم می‌کنند توجه شود. اخیراً در بیماری شیزوفرنی نقش گیرنده‌های NMDA مورد توجه واقع شده است و مدارکی نیز در رابطه با اهمیت افزایش نیروی اکسیداتیو(Oxidative stress) وجود دارد.[۲۲]

در همین رابطه نشان داده شده است که فعال شدن گیرنده NMDA موجب باز شدن کانال‌های کلسیمی و در نتیجه رها شدن و سرازیری یون‌های کلسیمی پس سیناپسی می‌شود. این یون‌های کلسیم موجب فعال شدن پروتئازهای تخریب کننده نورون‌ها می‌گردد بنابراین احتمال آن وجود دارد که فعال شدن پروتئازهای تخریب کننده نورون‌ها در بیماران شیزوفرنی، نوعی اثر غیرمستقیم بر تغییر میزان یون مس داشته باشد.

در مطالعه دیگری که روی عوامل خطر مهم جهت ابتلا به آلزایمر صورت گرفت، ثابت شد که هموسیستئین موجب افزایش یون مس و پپتیدهای سمی بتاآمیلوییدی در کشت سلول‌های اولیه عصبی می‌گردد.[۲۳] با کنار هم قرار دادن این اطلاعات و این مطلب که ممانعت از دپولاریزاسیون سلولی موجب کاهش یون مس در مغز میانی می‌شود، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که در بیماری آلزایمر که اختلال در غلظت یون مس وجود دارد اثرات هموسیستئین نیز بر مغز میانی بیش‌تر بوده و احتمالاً افزایش یون مس نیز در رابطه با چگونگی پاسخ گیرنده‌های NMDA می‌باشد.[۲۴]

همان گونه که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود یون پتاسیم با غلظت بالا به علت دپلاریزاسیون، موجب رها شدن یون روی از سیناپتوزوم‌ها می‌گردد که این اثر در مورد مخچه از نظر آماری معنی‌دار نبوده است. با توجه به تحقیقات قبلی در رابطه با اثر دپولاریزاسیون بر آزاد شدن یون روی از برش‌های هیپوکامپ مغز موش صحرایی[۲] و نتایج مشابه و هم‌سو، از معنی‌دار نبودن این تغییرات می‌توان صرف نظر کرد به خصوص آن که در حضور EGTA که شلاتور یون کلسیم و عامل بازدارنده برای دپلاریزاسیون است، اثر شدید و معکوسی در ناحیه استریتوم و ناحیه کورتکس($P<0/05$) مشاهده و مشخص شده است که پاسخ ناحیه استریتوم و ناحیه کورتکس به دپلاریزاسیون با پاسخ مغز میانی و هیپوتالاموس متفاوت می‌باشد بنابراین می‌توان چنین در نظر گرفت که پاسخ نواحی کورتکس و استریتوم احتمالاً مربوط به گیرنده‌های NMDA است که نوعی گیرنده یونوتروپیک می‌باشد. این کانال‌ها توسط یون منیزیوم و روی مسدود می‌شود[۲۰] به همین دلیل یون روی در این نواحی افزایش یافته و به دنبال آن انسداد کانال‌های ذکر شده رخ می‌دهد.

این احتمال وجود دارد که در بیماری آلزایمر که یون روی موجب تسریع در تجمع پپتیدهای سمی بتاآمیلوییدی می‌گردد،[۵] اختلال در کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم ایجاد شود که خود می‌تواند موجب افزایش یون روی در بعضی از نواحی از جمله استریتوم و کورتکس نسبت به سایر نواحی مغز گردد. به همین دلیل این نواحی در بیماری آلزایمر دچار آسیب شدیدتری می‌شوند. هر چند نتایج مطالعه حاضر می‌تواند آغازی برای تحقیقات بیش‌تر در مورد

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

تغییرات آزاد شدن عناصر به عنوان نورومدولاتور در بیماری‌های مختلف باشد، سئوال مهمی که باقی می‌ماند این است که آیا در شرایط in vivo I نیز دپولاریزاسیون یا یون کلسیم می‌تواند چنین اثری بر میزان مس و روی در پایانه‌های عصبی داشته باشد. این موضوع نیاز به تحقیقات بیش‌تری دارد تا نقش مس و روی در انتقالات عصبی و ارتباط آن با سایر مولکول‌های موثر در فرآیند نوروترانسمیشن مشخص گردد.

منابع

1- Won Sik Eum, In soon choung, A Yeon Kim, Young Je lee, Jung Hoon Kang, Jinseu park, et al. Transduction efficacy of Tat-Cu, Zn-Superoxide dismutaseis enhanced by copper Ion recovery of fusion protein. Mol Cells 2001; 13(2): 334-40.

2- Howell GA, Welch MG, Fredrickson CJ. Stimulation-induced uptake and release of zinc in hippocampal slices. Nature 1984; 308: 736-8.

3- Assaf SY, Chung SH. Release of endogenous Zn from brain tissue during activity. Nature 1984; 308: 734.

4- Blanchard BJ, Hiniker AE, Lu CC, Margolin Y, YU AS, Ingram VM. Toxicity of the aggregated alzheimer peptide AB1-42: effect on calcium homestasis and its elimination: Kinetic of aggretation. J. Alzheimers Disease 2000; 2: 137-49.

5- Lovell MA, Robertson JD, Teesdale WI, Campbell JL, W.R Markesbery. Copper, iron and zinc in alzheimers disease senile plaques. J Neural Sci 1998; 158(1): 47-52.

6- Maenhaut W. Application of Ion beam analysis in biology and medicine, a review. Nucl instrum meth 1988; B(35): 388-403.

7- Domont M, Lemaler S. Inhibition of ischemia evoked release of noradenaline from synaptosomal mitochondiral. J Mol Cell Cardiol 2000 Aug; 32(8): 1564-74.

8- Wei It, Matsumoto H, Rhoads DE. Release of imunoreactive insulin from rat brain synaptosomes under depolarizing condition. J Neurochem 1990 May; 54(5): 1661-5.

9- Johnson MW, Chotiner JK, Watson JB. Isolation and characterization of synaptosomes from single rat hippocampol slices. J Neurosei Method 1997 Dec; 31(6): 835-43.

10- Takeshi satio, Toshihiro Itoh, Hiroshi satoh, Kazuo Saito. Copper and zinc distributions in eight regions and subcellular fractions of rat brain. The journal of trace elements in experimental medicine 1988; 1: 33-40.

11- M. Boruchowska, M. Lankosz, D. Adamek, A. Korman. PIXE analysis of human brain tissue. X-Ray spectrom 2001; 30: 174-9.

12- Messripour M.Ph.D. Thesis university of london catecholamines metabolism in brain. 1982: 28-32.

13- Lowry OH, Rosebrough RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Boil Chem 1981; 193: 265-75.

14- Domont M, Lemaler S. Inhibition of ischemia evoked release of noradrenaline from synaptosomal mitochondrial. J Mol Cell Cardiol 2000 Agu; 32(8): 1564-74.

15- Lindau M, Stuenkel EL, Nordmann JJ. Depolarization intracellular calcium and exocytosis in single vertebrate nerve ending. Biophy S.J 1992; 61: 19-30.

16- Brethes, Dayanithi G, Nordmann JJ. Depolarization-induced ca-increase in isolated neurosecretory nerve terminals measured with fura-2. Proceeding of the national academy of sciences of the USA 1987; 84: 1439-43.

17- Westfall TC. Effect of muscarinic agonists on the release of 3Hnorepinephrine and 3Hdopamine by potassium and electrical stimulation from rat brain slices. Life Sci 1974; 14: 1641.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

18- Morita K, Barrett EF. Evidence for two calcium dependent potassium conductances in lizard motor nerve terminals. Journal of Neuroscience 1990; 10: 2614.

19- Berridge MJ. Elemetary and global aspects of calcium signaling. J Physiol Lond 1997; 499: 291-306.

20- AG Brown. Nerve cells and nervous systems An introduction to neuroscience. 2nd ed. singapore: Springer verlag london limited; 2001. P. 99, 235.

21- McManus OB. Calcium activated poassium channels: Regulation by calcium. Journal of bioenergetics and biomembranes 1991; 23: 537-60.

22- Smythies J. Recent advances in the neurobiology of schizophernia. German J Psychiarry 1998; 1(2): 24-40.

23- White AR, Haung X, Jobling MF, Barrow CJ, Beyreuther K, Masters CL, et al. Homocysteine potentiates copper and amyloid beta peptide mediated toxicity in primary neuronal cultures: Possible risk factors in the alzheimers. type. J. Neurochem 2001; 76: 1509-20.

24- Ascher P, Johnson JW. NMDA receptor. 2nd ed. Oxford: Oxford university press; 1994. P. 177-205.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]

Effect of Depolarization and Calcium ION Deficiency on Copper and Zinc Distributions in Five Regions of Male Rat Brain

***S.M. Mortazavi, MSc** [I] **M. Ani, Ph.D.** [II] **M. Mesri Pour, Ph.D.** [II]

Abstract

Changes in Cu and Zn ion levels have been reported in many nervous system disorders such as Alzheimer's disease, Wilson's disease and Pick's disease. The relationship between ion levels and polarization/depolarization of cell membrane is important since ion levels affect the state of polarization and depolarization of the cells. In this study, synaptosomes from different brain areas including cerebellum, hypothalamus, stratum, midbrain and cortex were prepared and the rate of copper and zinc was measured in depolarized or Ca^{++} deficiency condition. In an interventional study, rat brains were taken out of their skulls immediately after killing them and the synaptosome of various brain areas was prepared according to standard procedures. Prepared synaptosmes were incubated with potassium ion(55m molar) or EGTA (as calcium chelators). At the end of incubation period synaptosomes were burnt to ashes and remaining Zn and Cu were measured. The results were analyzed by student's t-test and significant values were calculated and reported. Based on the obtained results it was found out that in the presence of K^{+}, the level of remaining copper in synaptosome of midbrain and cortex was higher than that of controls while Cu and Zn levels in cerebellum, hypothalamus and stratum were lower compared with those of controls. In this condition, the amount of remaining Zn was higher in cerebellum comparing with that of controls, while it was lower in hypothalamus, midbrain, stratum and cortex. In samples treated with EGTA the amount of Cu in cerebella, hypothalamus and stratum regions were higher but hypothalamus and midbrain showed decreased level. This study showed that there is a relationship between neural activity and Cu and Zn content of neural cells; therefore, a disequilibrium in each ion level can lead to neural activity disorders presenting as a variety of neural disorders.

Key Words: 1) Cu 2) Zn 3) Calcium 4) Depolarization 5) Synaptosome

This article is a summary of the thesis by S.M. Mortazavi for MSc degree in Biochemistry under supervision of M. Ani, Ph.D. and M. Mesri Pour, Ph.D.(1991).

***I*)** *MSc in Biochemistry. Faculty member of Kurdistan University of Medical Sciences and Health Services. Sanandaj, Iran.(*Corresponding Author)*

***II*)** *Professor of Biochemistry. Isfahan University of Medical Sciences and Health Services. Isfahan, Iran.*

***III*)** *Professor of Biochemistry. Postdoc. in Neurochemistry. Faculty of Pharmacy. Isfahan Islamic Azad University(Khorasegan Branch).*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-15]