مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۷، شماره ۲، تابستان ۹۶، صفحات ۹۷ تا ۱۰۴

Original Article

بررسی سطح هیپوکامپی فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز و ارزیابی حافظه فضایی در مدل حیوانی اوتیسم القاء شده با والپروئیک اسید

زهرا برزو[۱]، محمد امین عدالت منش[۲]

[۱] کارشناس ارشد سلولی- تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
[۲] استادیار فیزیولوژی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *اوتیسم یک اختلال تکاملی رفتاری است که با نقص در برهمکنش‌های اجتماعی، ارتباطات، الگوهای محدود و تکراری از رفتارها و علایق همراه است. مطالعات، تغییر در سطح هیپوکامپی فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) را در اتیولوژی اوتیسم نشان داده‌اند. اما میزان و مکانیسم عملکرد این فاکتور تاکنون به صورت قطعی مشخص نشده است. این مطالعه به بررسی سطح هیپوکامپی BDNF و ارتباط آن با حافظه فضایی در مدل حیوانی اوتیسم القاء شده با والپروئیک اسید پرداخته است.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۰ سر از نوزادان نر و ماده موش‌های صحرایی ماده نژاد اسپراگ داولی، به دو گروه PBS (دریافت کننده فسفات بافر سالین، n=۲۰) و گروه VPA (دریافت کننده والپروئیک اسید، n=۲۰) تقسیم شدند. جهت القاء مدل حیوانی اوتیسم، گروه VPA به میزان ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان به صورت درون صفاقی در روز ۱۲/۵ بارداری دریافت کردند. به منظور سنجش تغییرات حافظه فضایی از آزمون ماز آبی موریس استفاده شد. سپس، سطح هیپوکامپی BDNF با روش الایزا سنجیده شد.*

یافته‌ها: *افزایش حافظه فضایی در آزمون ماز آبی موریس در حیوانات دریافت کننده VPA نسبت به حیوانات دریافت کننده PBS مشاهده شد. از سوی دیگر، سطح هیپوکامپی فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در موش صحرایی اوتیستیک افزایش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری: *افزایش BDNF در این مطالعه نشان دهنده کارایی بالای حافظه فضایی در مدل حیوانی اوتیسم القاء شده با والپروئیک اسید است.*

واژگان کلیدی: *اوتیسم، والپروئیک اسید، BDNF، حافظه فضایی.*

مقدمه

اوتیسم نوعی اختلال تکاملی عصبی است که توسط مجموعه-ای از علایم رفتاری، از جمله نقص در برهمکنش‌های ارتباطی، اجتماعی و طیفی از علایق و فعالیت های محدود، مشخص می‌شود (۱). امروزه، همچنان اتیولوژی بیماری اوتیسم، ناشناخته باقی مانده و تا به حال نیز درمان قطعی برای آن یافت نشده است. مطالعات اپیدمیولوژیک، شیوع بالاتری از اوتیسم را در سال‌های اخیر نسبت به دهه‌های گذشته گزارش می‌کند (۲). از این رو، انجام مطالعات انسانی و حیوانی بیشتر به جهت شناخت و فهم بهتر اتیولوژی و نوروبیولوژی این اختلال عصبی- روانی و به دنبال آن یافتن روش‌های درمانی مؤثر، مفید خواهد بود. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که قرار گرفتن در معرض والپروئیک اسید (VPA)، داروی ضد تشنجی که برای درمان صرع، اختلال دو قطبی و طیف وسیعی از سایر

آدرس نویسنده مسئول: : شیراز، پردیس دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، محمد امین عدالت منش (**email:**amin.edalatmanesh@gmail.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۵/۷/۱۷
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۵/۹/۲۲

بیماری‌ها استفاده می‌شود، می‌تواند طی بارداری، منجر به افزایش خطر ابتلا به طیف اختلالات اوتیسم (Autism Spectrum Disorders) شود (۳).

بسیاری از تحقیقات، علاوه بر نقش چندین فاکتور ژنتیکی، فاکتورهای محیطی، مانند قرار گرفتن در معرض بعضی فاکتورها از جمله واکسن‌ها، مسمومیت با فلزات سنگین مثل سرب و جیوه، عوامل تراتوژنیک (مثل تالیدومایدِ، والپروئیک اسید و اتانول) یا آلودگی‌های ویروسی مزمن (پیش یا در هنگام تولد) را نیز مهم دانسته‌اند. بنابراین، مشاهدات پیشنهاد می‌کنند که ارتباط متقابل بین فاکتورهای ژنتیکی و محیطی، ممکن است ریسک ابتلا به اوتیسم را افزایش دهد (۴). اخیراً به اهمیت نقش فاکتورهای ایمونولوژیکی، نورولوژیکی، محیطی و ژنتیکی متعددی پی برده‌اند. به عبارتی ممکن است مجموعه‌ای از چندین فاکتور مختلف، در طول تکامل، سبب ایجاد تغییرات پیچیده در سازمان دهی سیستم عصبی مرکزی و بروز اختلالات عصبی شده و همین موارد می‌تواند مسئول بروز مشکلات رفتاری و کلامی پیچیده‌ای باشند که در افراد اوتیستیک دیده می‌شود (۵). قرار گرفتن در معرض والپروئیک اسید یا ۲-propylpentanoic acid، دارویی ضد تشنج که برای درمان صرع، عفونت‌های ناشی از ویروس ایدز، درمان دوره‌های مانیک اختلال دو قطبی و پیشگیری از سردرد های میگرنی استفاده می‌شود، دارای اثرات تراتوژن روی جنین انسان به ویژه در طول سه ماهه اول بارداری (۶)، مانند نقص در تکامل لوله عصبی و سایر اختلالات مادرزادی است (۸،۷). در مطالعات قبلی نتایج حاصل از قرار گرفتن پیش از تولد در معرض VPA در طول مرحله جنینی در جوندگان بررسی شده است و اختلالات هتروژن مشابه اوتیسم، از قبیل کاهش سلول‌های پورکنژ مخچه و نشانه‌های آسیب ساقه مغز مشاهده شده است. مطالعات رفتاری نشان داده است که تعدادی از نشانه‌های اصلی مبتلا به اوتیسم، مانند اختلال در تعاملات اجتماعی و حساسیت بالا نسبت به تحریک‌های حسی نیز در موش‌های صحرایی مدل VPA نیز مشاهده می‌شود (۹). همچنین، مطالعات اپیدمیولوژیک شیوع بالاتر اوتیسم را در سال های اخیر نسبت به قبل از سال ۱۹۹۰ گزارش می‌کند. چند دهه پیش، اوتیسم اختلال نادری بود که ۴-۳ در هر ۱۰۰۰۰ کودک را مبتلا می‌کرد، در حالی که نرخ فعلی آن ۱۰ تا ۱۵ از هر ۱۰۰۰۰ کودک براورد شده است. افزایش بروز اوتیسم در کودکان گزارش شده است. تعداد کودکان مبتلا به ASD تشخیص داده شده به مرور و در دهه گذشته افزایش یافته است و این اختلال در حال حاضر حدود ۱ از ۹۱ نفر در ایالات متحده آمریکا گزارش می‌شود. با این حال، مبتلایان به سندرم اوتیسم در مردان چهار برابر بیشتر از زنان رخ می‌دهد. شیوع در مردان مبتلا نزدیک به دو درصد از کل جمعیت عمومی است. اوتیسم به طور سنتی به عنوان یک اختلال مشخص مغزی بدون هیچ گونه درمان خاص بیان می‌شود (۳). هیپوکامپ ساختاری اصلی از مغز انسان و دیگر مهره‌داران است و به سیستم لیمبیک تعلق دارد که نقش مهمی در تثبیت اطلاعات و تبدیل حافظه کوتاه مدت به حافظه بلند مدت و جهت یابی فضایی را ایفا می‌کند (۱۰). هیپوکامپ بخشی از قشر پره فرونتال در مغز پستانداران است که به عقیده دانشمندان، ساختار اصلی در یادگیری فضایی و تثبیت حافظه است و همچنین دارای عملکردهای متعدد حیاتی در فرایند حافظه است که شامل ذخیره سازی، تثبیت و بازیابی اطلاعات می‌شود (۱۱). در این میان، حافظه فضایی، به ویژه به این ساختار بستگی دارد. آسیب به هیپوکامپ، به میزان شدیدی باعث آسیب به حافظه فضایی می‌شود (۱۲). Joseph Piven از دانشگاه Iowa بیان کرد که تفاوت‌های زیادی در مغز فرد سالم و فرد مبتلا به اوتیسم وجود دارد. وی چنین بیان کرد که در مغز مبتلایان به اوتیسم، مخچه بزرگ‌تر و کورپوس کالوزوم کوچکتر است (۱۳). مطالعه دیگری نشان داد که آمیگدال و هیپوکامپ در مغز مبتلا به اوتیسم متفاوت است. در فرد مبتلا به اوتیسم این ساختارها سرشار از نورون‌های بسته بندی شده و سلول‌های عصبی کوچک‌تر از مغز سالم بودند؛ همچنین، در مخچه کاهش قابل توجهی در تعداد سلول‌های پورکنژ را مشاهده کردند (۱۴). از آنجا که فرد مبتلا به اوتیسم دارای نقص در ساختار مغز است، بنابراین تغییر در ساختار مغز، تغییر در رفتار را نتیجه می‌دهد. فرد اوتیستیک با داشتن اشکال در تعامل اجتماعی، دشواری در برقراری ارتباط کلامی و غیر کلامی، مشکل با ایجاد تخیل، مشخص می‌شود. با تحلیل رفتار غیر طبیعی از فرد مبتلا به اوتیسم، نقش‌هایی که مخچه، کورپوس کالوزوم، آمیگدال و هیپوکامپ در این بیماری دارند را می‌توان از آن استنتاج کرد (۱۷-۱۵). نوروتروفین‌ها (خانواده‌ای از فاکتورهای رشد عصبی) نقش‌های تنظیمی متعددی از تکثیر گرفته تا تشکیل سیناپس را بر عهده دارند (۱۸). فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF)، یکی از اعضای خانواده نوروتروفین‌ها است که شامل فاکتور رشد عصبی (NGF)، نوروتروفین – ۳ (NT-3)، NT-4 و NT-5) است و در سیستم عصبی مرکزی پستانداران بیان می‌شود. همه این فاکتورها، به لحاظ توالی و ساختار، هومولوگ هستند و منشأ ژنومیک مشابهی دارند. نوروتروفین‌ها، دو دسته رسپتور

متفاوت را فعال می‌کنند: Trk (مسئول بقاء نورون‌ها) و رسپتورp57 (مسئول القاء آپوپتوز). BDNF و رسپتورش، تیروزین کیناز B، برای یادگیری و حافظه وابسته به هیپوکامپ ضروری هستند. در میان فاکتورهای نوروتروفیک نام برده، BDNF، در فرایندهای یادگیری و حافظه و انعطاف پذیری سیناپسی، بیشترین نقش را دارد (۲۰،۱۹). BDNF در سلول های گرانولار ژیروس دندانه‌ای، نورون‌های تحریکی هرمی هیپوکامپ و قشر مغز و تا حدودی نیز در مخچه، استریاتوم و آمیگدال بیان می‌شود که تمامی این نواحی مغزی، مستقیم یا به طور غیر مستقیم، در حافظه و عملکردهای شناختی نقش دارند. این امر نشان دهنده نقش حیاتی BDNF در شناخت، به ویژه در طول شکل گیری فرایند های حافظه و یادگیری است. BDNF، همچنین تنظیم کننده مورفولوژی دندریتی و آکسونی است و بر روی سیناپتوژنز و انتقال سیناپسی نیز مؤثر است. کاهش سطوح BDNF، نیز باعث کاهش میزان تکثیر و بقاء سلول‌های جدید در هیپوکامپ می‌شود (۲۰،۱۹) این مطالعه با هدف بررسی سطح هیپوکامپی BDNF و ارتباط آن با حافظه فضایی در موش‌های صحرایی مبتلا به اوتیسم و بررسی اثر جنسیت صورت گرفت.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرایی نر و ماده نژاد اسپراگ داولی استفاده شد. حیوانات تحت شرایط استاندارد دمایی (۲±۲۵ درجه سانتی گراد) و رطوبت (۱۰±۵۰ درصد) و چرخهٔ روشنایی و تار یکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. کلیهٔ مراحل کار با حیوانات، طبق قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی و با نظارت کمیتهٔ اخلاقی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز انجام شد. ۲۰ موش صحرایی ماده باکره با میانگین وزنی ۱۰±۱۸۰ گرم برای جفت‌گیری مورد استفاده قرار گرفتند. هر موش صحرایی نر با یک موش صحرایی ماده در یک قفس جفت گیری قرار گرفتند. سپس با بررسی نمونه واژینال به روش پاپ اسمیر جهت حضور اسپرماتوزوآ، روز صفر بارداری تعیین شد. به ۱۰ سر موش صحرایی باردار فسفات بافر سالین (PBS) به میزان ۱ میلی لیتر و به ۱۰ سر دیگر والپروئیک اسید (VPA) ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم همراه با PBSدر روز ۱۲/۵ بارداری تزریق شد. نوزادان به دنیا آمده تا ۲۴ روزگی در کنار مادر نگهداری شدند. سپس، ۴۰ نوزاد به صورت تصادفی به دو گروه PBS و VPA تقسیم شدند. آزمون سنجش حافظه فضایی در ۶۰ روزگی صورت گرفت.

روش عملی آزمون یادگیری و حافظه با مازآبی موریس

حوضچه‌ای سیاه رنگ با قطر ۱۳۶ سانتی متر و ارتفاع ۶۰ سانتی متر، تقریباً تا ارتفاع ۲۵ سانتی متری با آبی با دمای ۱±۲۴ درجه سانتی گراد پر شد. یک سکو با قطر ۱۰ سانتی متر در حدود یک سانتی متر زیر سطح آب در مرکز یکی از ربع های دایره قرار داشت. در هر بلوک آزمایش هر موش چهار بار مورد آزمایش (چهار تریال) قرار گرفت که موقعیت سکو و مختصات آن در همان روز برای همه گروه‌های آزمایشی یکسان بود، اما نقطه شروع در هر بار آزمایش می‌توانست یکی از چهار جهت شماال، جنوب، شرق و یا غرب باشد که به طور تصادفی توسط نرم افزار ردیاب تعیین می‌شد. سپس تمام مسیرهای پیموده شده توسط دوربین و نرم افزار کامپیوتری ثبت می‌شد که این فیلم توسط برنامه نرم افزاری ردیاب مورد پردازش قرار گرفت. از هر فیلم پردازش شده یک میانگین عددی برای شاخص‌های طول مسافت و مدت زمان تأخیر در یافتن سکو استخراج شد. برای تثبیت یادگیری و آموزش ۴ بلوک متوالی (هر بلاک شامل چهار بار آزمایش از جهات مختلف برای هر موش می باشد) انجام گرفت و سپس در روز بعد آزمون به خاطرآوری انجام شد. در این آزمون سکویی که طی ۴ بلوک آزمون یادگیری به طور ثابت در یکی از ربع‌های حوضچه قرار داشت از داخل حوضچه برداشته می شد و مدت زمانی که موش در ربع هدف (Q1) و ربع های غیر هدف (Q2، Q3 و Q4) شنا می‌کرد، به عنوان شاخص به خاطرآوری در نظر گرفته شد (۲۱).

آزمون بیوشیمیایی سنجش سطح هیپوکامپی BDNF

پس از بیهوشی حیوانات با استفاده از اتر، سر حیوانات با گیوتین جدا شد و پس از خارج نمودن مغز، هیپوکامپ تشریح و جدا شد. نمونه هیپوکامپ هر حیوان جداگانه در هاون چینی به همراه مقداری ازت مایع قرار گرفت و سپس نمونه کاملاً میکس به صورت پودر در آمد. نمونه به همراه ۰/۵ میلی‌لیتر فسفات بافر سالین درون لوله آزمایش قرار گرفت و با دور ۴۰۰۰ و زمان ۱۰ دقیقه سانتریوفیوژ شد. رو شناور به کمک سمپلر برداشته شد و سپس میزان بافتی BDNF به روش الایزا سنجیده شد (۲۲).

تحلیل آماری

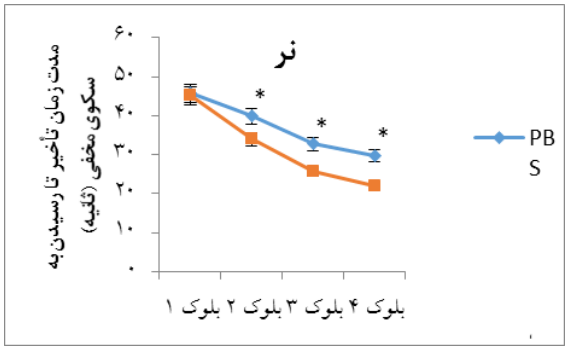
تحلیل آماری بین گروه‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SPSS ویرایش ۲۲ انجام شد. به منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مورد نظر، از آزمون T-Test مستقل استفاده شد. مقادیر $p<۰/۰۵$، معنی‌دار در نظر گرفته شد.

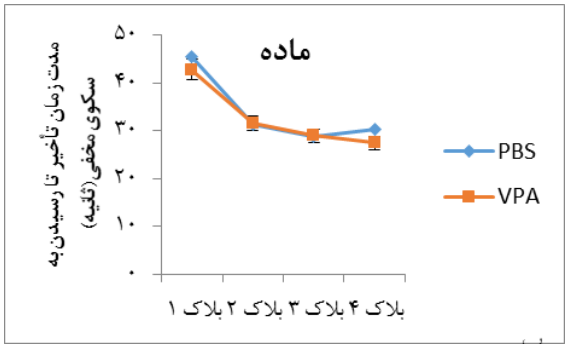
یافته‌ها

ارزیابی حافظه فضایی

آزمون یادگیری

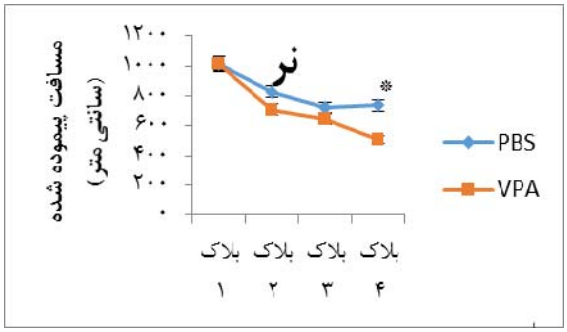
نتایج حاصل از تست ماز آبی موریس جهت سنجش حافظه فضایی طی سن ۶۰ روزگی نشان داد که حیوانات دریافت کننده VPA در دوره جنینی نسبت به حیوانات دریافت کننده PBSدر دوره جنینی به عنوان کنترل، در مدت زمان تأخیر تا رسیدن به سکوی مخفی طی چهار بلوک یادگیری تفاوت معنی‌داری را نشان دادند. بدین صورت که اختلاف معنی‌داری طی بلوک ۲، ۳ و ۴ در موش‌های صحرایی نر ۶۰ روزه گروه VPA نسبت به موش‌های صحرایی نر گروه PBS در مدت زمان تأخیر تا رسیدن به سکوی مخفی مشاهده شد (p<۰/۰۵)، هر چند، در جنس ماده اختلاف معنی‌داری دیده نشد (نمودار ۱ الف و ب).

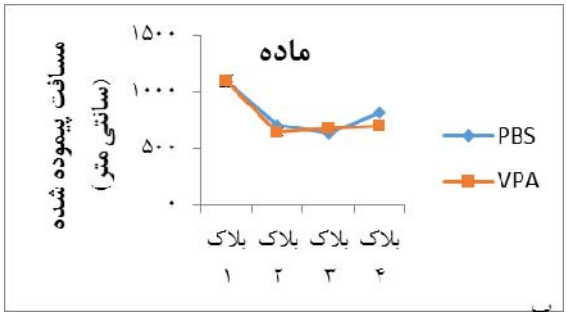




نمودار ۱. میانگین ± انحراف معیار مدت زمان تأخیر تا رسیدن به سکوی مخفی طی چهار بلوک یادگیری در ماز آبی موریس. نمودار الف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌داری در موش‌های صحرایی نر دریافت کننده VPA (10=n) نسبت به گروه PBS (10=n) طی بلوک دو (*p<۰/۰۵) است، هرچند در نمودار ب در جنس ماده تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

نتایج حاصل از میانگین مسافت طی شده تا سکوی مخفی در چهار بلوک یادگیری، تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه PBS و VPA نشان داد (p<۰/۰۵)، هرچند، هیچ اختلاف معنی‌داری در جنس ماده مشاهده نشد (نمودار ۲ الف و ب).



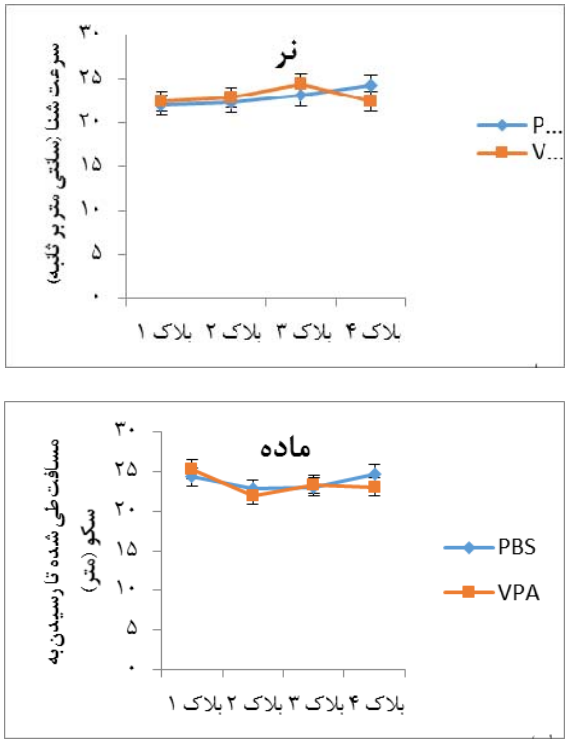


نمودار ۲. میانگین ± انحراف معیار مسافت پیموده شده تا رسیدن به سکوی مخفی طی چهار بلوک یادگیری در ماز آبی موریس. نمودار الف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌داری در بین موش‌های صحرایی نر دو گروه VPA (10=n) و PBS (10=n) طی بلوک چهار (*p<۰/۰۵) است، هرچند، در جنس ماده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (ب).

نتایج حاصل از میانگین سرعت شنا طی چهار بلوک یادگیری در تست ماز آبی موریس تفاوتی را بین گروه دریافت کننده VPA و گروه PBS در دو جنس نر و ماده نشان نداد (نمودار۳ الف و ب).

آزمون به خاطر آوری (پروب)

نتایج حاصل از مقایسه میانگین مدت زمان شنا کردن در هر یک از ربع های ماز طی آزمون به خاطر آوری یا پروب نشان داد که موش‌های صحرایی دریافت کننده VPA در ربع هدف (Q1) نسبت به رت‌های گروه PBS تفاوت معنی‌داری را در مدت زمان شنا نشان می‌دهند (p<۰/۰۰۱). در سایر ربع‌ها در هیچ کدام از دو جنس نر و ماده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. (نمودار ۴ الف تا د).



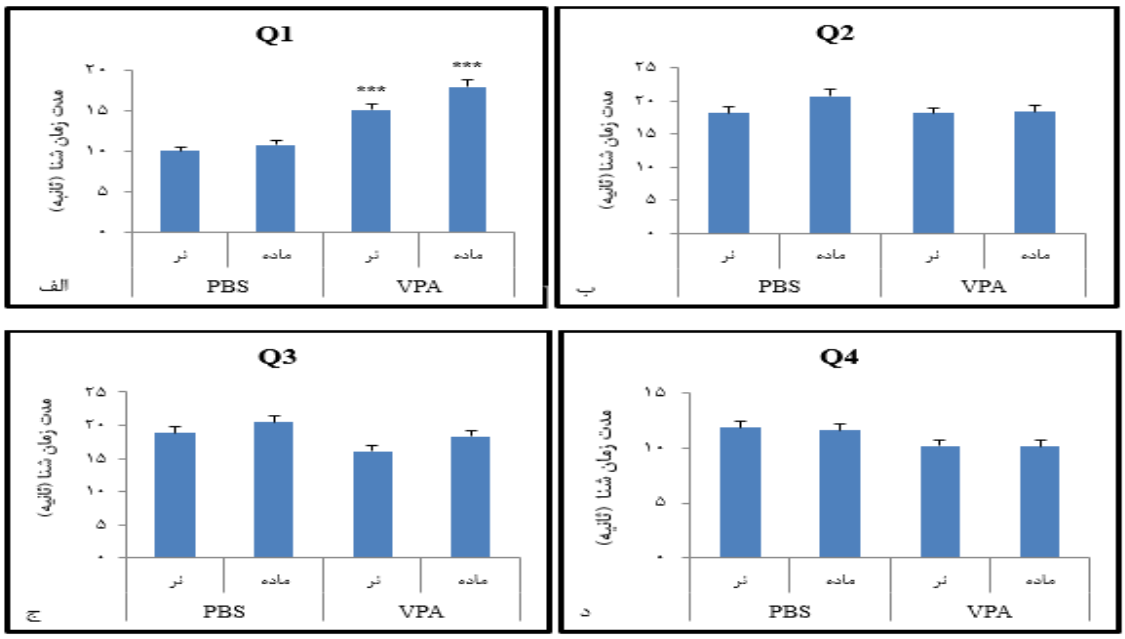
نمودار۳. میانگین ± انحراف معیار سرعت شنا طی چهار بلوک یادگیری در ماز آبی موریس. نمودار نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین گروه دریافت کننده VPA و گروه PBS در دو جنس نر (تعداد ۱۰) و ماده (تعداد ۱۰) است (الف و ب).

سنجش سطح هیپوکامپی BDNF

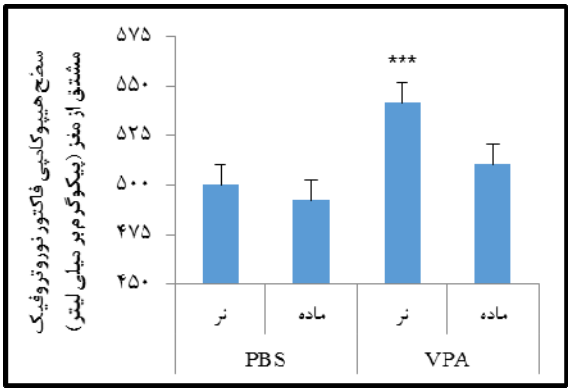
نتایج نشان داد که سطح هیپوکامپی فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در گروه VPA با PBS دارای اختلاف معنی‌دار در جنس نر است (p<۰/۰۰۱)، ولی در این مطالعه تفاوتی در جنس ماده مشاهده نشد (نمودار ۵).

بحث

اختلال طیف اوتیسم، گروه پیچیده‌ای از ناتوانی‌های تکاملی است که با طیف گسترده‌ای از اختلال در مهارت‌های اجتماعی و ارتباطی، رفتارهای تکراری و انعطاف پذیری ذهنی محدود شده همراه است. ناهنجاری آشکار در طیف اوتیسم رشد بی اندازه و زود هنگام مغز را شامل می‌شود و توقف رشد در سال اول زندگی را به دنبال دارد (۲۱). مطالعات MRI مغز در بسیاری از کودکان مبتلا به اوتیسم، افزایش حجم کل مغز و اختلال در مخچه، سیستم لیمبیک (هیپوکامپ و آمیگدال) و لوب فرونتال را نشان داده است. کودکان مبتلابه این اختلال، علایمی نظیر ضعف در برقراری روابط اجتماعی، کلامی، ابراز علایق و فعالیت‌های محدود را بروز می‌دهند. شروع این اختلال، قبل از سه سالگی است (۱). اثرات VPA روی دو سیستم نوروترانسمیتری مهم مغز (گلوتامات و گابا)، توجیه



نمودار ۴. میانگین ± انحراف معیار مدت زمان شنا کردن در هر یک از ربع‌های ماز آبی موریس طی آزمون پروب. نمودار الف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین دو گروه VPA و PBS در دو جنس نر (تعداد ۱۰) و ماده (تعداد ۱۰) در ربع هدف یا Q1 است (p<۰/۰۰۱)***، ولی هیچ گونه اختلاف معنی‌داری در ربع‌های Q2، Q3 و Q4 در بین گروه‌ها و در دو جنس نر و ماده مشاهده نشد (ب، ج و د).



نمودار ۵. میانگین ± انحراف معیار سطح هیپوکامپی BDNF. نمودار حاصل اختلاف معنی‌داری بین گروه VPA (n=۱۰) و PBS (n=۱۰) را در جنس نر نشان داد (***p<۰/۰۰۱). در جنس ماده اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد.

کننده اثرات ضد صرع و حفاظت نورونی این دارو است. همچنین VPA، بر استرس اکسیداتیو نیز اثر می‌گذارد و این عمل را از طریق مهار لیپید پراکسیداسیون و پروتئین اکسیداسیون، روی سلول‌های قشری موش‌های صحرایی در محیط کشت، اعمال می‌کند. VPA سبب القاء آپوپتوز سلول های میکروگلیا می‌شود. این اثر آپوپتوتیک VPA روی سلول های میکروگلیا، درنتیجه عملکرد مهاری هیستون د- استیلاسیون است. همچنین، اثرات حفاظت نورونی VPA، در چندین مدل حیوانی بیماری های دژنراتیو مزمن که اغلب با اختلالات شناختی نیز همراهند ، مورد بررسی قرار گرفته است و به نظر می‌رسد که VPA اعمال کننده اثرات افزایش دهندگی بر روی حافظه نیز می‌باشد (۲۳). به طور خلاصه، VPA، در میان مهار کننده‌های هیستون د-استیلازی، یکی از جالب‌ترین داروهاست که عملکرد مهاری هیستون د-استیلازی‌اش، توسط طیف وسیعی از اثرات بیوشیمیائی القا می‌شود و به نظر می‌رسد که همگی این اثرات، در حفاظت نورونی و افزایش فرایندهای شناختی نقش دارند (۲۴). هرچند، تجویز VPA، همانند تجویز بسیاری از فاکتورهای محیطی در دوران بارداری، احتمالاً از طریق افزایش و یا کاهش بیان برخی ژن‌ها یا فاکتورهای عصبی (اثرات اپی ژنتیکی)، سبب القاء اثرات دیرپایی بر روی نوروژنز هیپوکامپ بالغ می‌شود و به نظر می‌رسد که تعدیل در نوروژنز، ممکن است باعث تغییرات شناختی مادام العمری شود که احتمالاً ناشی از تأثیر VPA در دوران بارداری است (۲۶،۲۵). با تکیه بر شواهد موجود، یکی از مکانیسم‌های پیشنهاد شده برای افزایش معنی‌دار تراکم سلول‌های هیپوکامپ و آمیگدال در اوتیسم که طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۳ انجام شد، افزایش تراکم سلولی در پنج ناحیه مختلف هیپوکامپ در حیوانات مدل VPA اوتیسم بود. این محققین دریافتند که افزایش حافظه فضایی، احتمالاً ناشی از افزایش عملکرد هیپوکامپ در حیوانات اوتیستیک است (۹). هرچند، در این مطالعه نتوانستند به تفاوت جنسیتی در حافظه فضایی دست یابند. از این رو می‌توان این گونه نتیجه گرفت که افزایش حافظه فضایی در گروه VPA، نسبت به گروه PBS در مطالعه حاضر نیز می‌تواند احتمالاً در نتیجه افزایش عملکرد و فعالیت هیپوکامپ باشد. احتمالاً القاء فرایند نوروژنز منجر به تکثیر سلول‌ها در نواحی لیمبیک مغز می‌شود. افزایش فرایند نوروژنز با نقشی که در حافظه و یادگیری دارد، سبب افزایش قدرت حافظه فضایی و اجتنابی در اوتیسم می‌شود، چرا که اختلال در نوروژنز هیپوکامپ در بالغین، منجر به آسیب حافظه و یادگیری فضایی می‌شود. با این حال در برخی از بیماری های روانی، تغییراتی در نوروژنز هیپوکامپ دیده شده است (۲۷،۲۰،۱۹). تحقیق حاضر، بیان کننده این فرضیه است که احتمالاً اثرات اپی ژنتیکی حاصل از تجویز VPA طی بارداری، سبب تغییراتی در بیان برخی از ژن‌ها یا فاکتورهای خاصی می‌شود که به ویژه در فرایندهای مربوط به انعطاف پذیری یا مرگ نورونی، از جمله نوروژنز یا آپوپتوز سلولی، نقش دارند و یا باعث فعال‌سازی برخی از مسیرهای سیگنالینگ سلولی می‌شوند. این اثرات احتمالاً توجیه کننده تغییرات میکروآناتومیک دیده شده در حیوانات مدل VPA اوتیسم و در جنس نر طی بررسی حاضر است. لذا در انسان‌های مبتلا به اوتیسم نیز احتمالاً تاثیرات ژن‌ها و عوامل محیطی، منجر به القاء این اثرات اپی ژنتیکی و به دنبال آن، طیفی از تغییرات ژنتیکی، مولکولی و سلولی در ساختار های مختلف مغزی و در نهایت بروز علایم اوتیستیک می‌شوند. نوروتروفین‌ها تنظیم کننده های اصلی تکوین، رشد و تمایز بخش‌های مختلف سیستم عصبی مرکزی و محیطی هستند (۲۸). BDNF یک نوروتروفین اصلی و مسئول رشد و توسعه مغز در دوران بارداری و اوایل دوران کودکی است. BDNF نقش مهمی در پاتوژنز اوتیسم، از طریق اثر نوروتروفیک آن بر سیستم سروتونرژیک دارد. ارتباط پاتوفیزیولوژیک بین BDNF و اوتیسم به خوبی توضیح داده نشده است. اوتیسم، در بین بیماری های عصبی - روانی، تنها اختلالی است که سطوح BDNF در خون و مغز افراد مبتلا به آن، نسبت به گروه کنترل، افزایش می‌یابد. از طرفی مطالعات نشان داده اند که افزایش اولیه فعالیت BDNF، ممکن است نقش اتیولوژیکی در بروز اوتیسم، طی دوران ابتدایی زندگی داشته باشد. چرا که

یافته ها نشان داده‌اند که سطوح BDNF سرم خون و بافت مغز در گروه مبتلا به اوتیسم، در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌یابد. علاوه بر این، افزایش فعالیت BDNF ممکن است با افزایش رشد مغز پس از تولد، در کودکان اوتیستیک ارتباط داشته باشد (۲۹). با این حال تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با میزان دقیق BDNF در مبتلایان پسر و دختر و نسبت آن انجام نشده است. ارتباط مستقیمی بین بیان BDNF mRNA و عملکرد های رفتاری در تست‌های متعدد حافظه و یادگیری وجود دارد. به نظر می‌رسد، یادگیری وابسته به هیپوکامپ در ماز آبی موریس و حافظه مبتنی بر ترس در تست حافظه اجتنابی، با افزایش سریع و موقت در بیان BDNF mRNA هیپوکامپ ارتباط دارد (۲۰،۱۹). اکتساب، تقویت و تثبیت حافظه با افزایش بیان BDNF mRNA و فعال شدن رسپتور آن، یعنی TrkB ارتباط دارد و محرومیت ژنتیکی یا فارموکولوژیکی از BDNF یا TrkB باعث اختلال در یادگیری و حافظه می‌شود (۳۰). می‌توان گفت که احتمالاً اثرات اپی ژنتیکی VPA که طی بارداری تجویز می‌شود، در مدل حیوانی اوتیسم به همین شکل، سبب افزایش سطوح BDNF در ساختار های لیمبیک بیشتر می‌شود و به دنبال آن، توانایی های شناختی، افزایش می‌یابند. چنانچه تمامی این فرضیات اثبات شوند، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً افزایش BDNF، سبب افزایش رشد ساختارهای لیمبیک و قشری، افزایش حجم مغز و احتمالاً افزایش عملکرد این ساختارها در افراد اوتیستیک می‌شود. BDNF و NT-3 (نوروتروفین-۳) به شدت در ساختارهای هیپوکامپ و قشر مغز بیان شده و مرتبط با بقاء و عملکرد چندین جمعیت نورونی هستند (۲۸). در مطالعه حاضر نیز، سطح هیپوکامپی BDNF در گروه VPA، افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه PBS داشت که می‌تواند دلیلی بر افزایش فعالیت هیپوکامپ و بهبود حافظه و یادگیری در گروه VPA در مقایسه با کنترل باشد. این نتایج تأیید کننده نتایج مطالعات قبلی هستند، هر چند در مطالعات قبلی تفاوتی بین جنس نر و ماده دیده نشده است؛ اما مطالعه حاضر نشان داد که احتمال افزایش BDNF و فعالیت بیشتر هیپوکامپ در زاده‌های نر مبتلا به اوتیسم بیشتر از ماده‌ها است.

در پایان می‌توان گفت VPA طی دوران بارداری احتمالا سبب تأخیر در بسته شدن لوله عصبی شده و خطر ابتلا به اوتیسم را افزایش می‌دهد. VPA باعث افزایش حافظه فضایی و افزایش بیان هیپوکامپی BDNF در نوزادان نر در مقایسه با جنس ماده می‌شود، که این نتایج با مطالعات انسانی در مورد نسبت جنسیتی بالای پسرها در اوتیسم نسبت به دخترها قابل توجیه است. هر چند مطالعات بیشتری در این زمینه باید صورت گیرد.

REFERENCES

1. Barnes-Holmes D, Miller EC, Canitano R, Moller AR, Destefani V, Murphy C, et al., editors. New autism research developments. New York: Nova Science Publishers, Inc; 2008.

2. DiCicco-Bloom E, Lord C, Zwaigenbaum L, Courchesne E, Dager SR, Schmitz C, et al. The developmental neurobiology of autism spectrum disorder. J Neurosci 2006;26:6897-906.

3. Dudova I, Kasparova M, Markova D, Zemankova J, Beranova S, Urbanek T, et al., Screening for autism in preterm children with extremely low and very low birth weight. Neuropsychiatr Dis Treat 2014;10:277-82.

4. Pardo CA, Eberhart CG. The neurobiology of autism. Brain Pathol 2007:17:434-47.

5. Pardo CA, Vargas DL, Zimmerman AW. Immunity, neuroglia and neuroinflammation in autism. Int Rev Psychiatry 2005;17:485-95.

6. Dalens B, Raynaud EJ, Gaulme J. Teratogenicity of valproic acid. J Pediatr 1980;97:332-3.

7. Arndt TL, Stodgell CJ, Rodier PM. The teratology of autism. Int J Dev Neuroscience 2005;23:189-99.

8. DiCenzo R, Peterson D, Cruttenden K, Morse G, Riggs G, Gelbard H, et al. Effects of valproic acid coadministration on plasma efavirenz and lopinavir concentrations in human immunodeficiency virus-infected adults. Antimicrob Agents Chemother 2004:48:4328-31.

9. Edalatmanesh MA, Nikfarjam H, Vafaee-Bagheri F, Moghadas M. Increased hippocampal cell density and enhanced spatial memory in the valproic acid rat model of autism. Brain Res 2013;13:1-3.

10. Dominguez G, Faucher P, Henkous N, Krazem A, Piérard C, Béracochéa D. Stress induced a shift from dorsal hippocampus to prefrontal cortex dependent memory retrieval: role of regional corticosterone. Front Behav Neurosci 2014;15:166-8.

11. Seo TB, Cho HS, Shin MS, Kim CJ, Ji ES, Baek SS. Treadmill exercise improves behavioral outcomes and spatial learning memory through up-regulation of reelin signaling pathway in autistic rats. J Exerc Rehabil 2013;9:220-9.

12. Schumann CM, Hamstra J, Goodlin-Jones BL, Lotspeich LJ, Kwon H, Buonocore MH, et al., The amygdala is enlarged in children but not adolescents with autism; the hippocampus is enlarged at all ages. J Neurosci 2004;24:6392-401.

13. Newschaffer CJ, Croen LA, Daniels J, Giarelli E, Grether JK, Levy SE, et al. The epidemiology of autism spectrum disorders. Annu Rev Public Health 2007;28:235-8.

14. Caronna EB, Milunsky JM, Tager-Flusberg H. Autism spectrum disorders: clinical and research frontiers. Arch Dis Child 2008;93:518-23.

15. Dickerson BC, Eichenbaum H. The episodic memory system: neurocircuitry and disorders. Neuropsychopharmacology 2010;35:86-104.

16. Maguire GA. Impact of Antipsychotics on Geriatric Patients: Efficacy, Dosing, and Compliance. Prim Care Companion J Clin Psychiatry 2000;2:165-72.

17. Pacteau C, Einon D, Sinden J. Early rearing environment and dorsal hippocampal ibotenic acid lesions: long-term influences on spatial learning and alternation in the rat. Behav Brain Res 1989;34:79-96.

18. Monfils MH, Cowansage KK, LeDoux JE. Brain-derived neurotrophic factor:linking fear learning to memory consolidation. Mol Pharmacol 2007;72:235-37.

19. Lee E, Son H. Adult hippocampal neurogenesis and related neurotrophic factors. BMB Reports 2009; 42:239-44.

20. Boehme F, Gil-Mohapel J, Cox A, Patten A, Giles E, Brocardo PS, et al. Voluntary exercise induces adult hippocampal neurogenesis and BDNF expression in a rodent model of fetal alcohol spectrum disorders. Eur J Neurosci 2011;33:1799-11.

21. Markram K, Rinaldi T, La Mendola D, Sandi C, Markram H. Abnormal fear conditioning and amygdala processing in an animal model of autism. Neuropsychopharmacology 2008;33:901-12.

22. Sgadò P, Provenzano G, Dassi E, Adami V, Zunino G, Genovesi S, et al. Transcriptome profiling in engrailed-2 mutant mice reveals common molecular pathways associated with autism spectrum disorders. Mol Autism 2013;19:51-5.

23. Nalivaeva NN, Belyaev ND, Lewis DI, Pickles AR, Makova NZ, Bagrova DI, et al. Effect of sodium valproate administration on brain neprylysin expression and memory in rats. J Mol Neurosci 2012;4:569-77.

24. Monti B, Polazzi E, Contastabile A. Biochemical, molecular and epigenetics mechanisms of valproic acid neuroprotection. Cur Mol Pharmacol 2009;2:95-109.

25. Wang Z, Xu L, Zhu X, Cui W, Sun Y, Nishijo H, et al. Deemethylation of specific Wnt/β-catenin pathway genes and its upregulation in rat brain induced by prenatal valproate exposure. Anat Rec (Hoboken) 2010;293:1947-53.

26. Go H.S, Seo J.E, Kim KC, Han SM, Kim P, Kang YS. Valproic acid inhibits neural progenitor cell death by activation of NF-KB signaling pathway and up regulation of Bcl-XL. J Biomed Sci 2011;18:48-51.

27. Abrus DN, Wojtowicz J.M, Neurogenesis and the hippocampal memory system. In gagw FH, kempermann G, Song H-J (Eds) Adult Neurogenesis. Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour.2008. pp 445-462.

28. Nykjaer A, Willnow TE, Petersen CM. p75NTR live or let die. Curr Opin Neurobiol 2005;15:49-57.

29. Tsai SJ. Is autism caused by early hyperactivity of brain-derived neurotrophic factor?. Med Hypotheses 2005; 65:79-82.

30. Yamada K, Nabeshima T. Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in memory processes. J Pharmacol Sci 2003;91:267-70.