

BDNF، از ژن تا پروتئین

چکیده

فاکتور نوروتروفیک با منشأ مغزی (BDNF)، عضوی از پروتئین‌های خانواده نوروتروفین می‌باشد. BDNF، با تأثیر بر روی نورون‌های اصلی سیستم عصبی مرکزی و محیطی، بقا، رشد و تمایز نورون‌ها را حمایت می‌کند. همچنین، تأثیر این پروتئین بر روی حافظه بلند مدت نیز مشخص شده است. تنظیم بیان ژن BDNF به واسطه چندین پروموتور و در نتیجه سنتز رونوشت‌های مختلف با عملکردهای سلولی ویژه انجام می‌شود. از طرفی عوامل اپی-ژنتیکی نیز بر روی تنظیم بیان این ژن بسیار موثرند. مطالعات انجام شده بر روی چند شکلی این ژن نیز نشان می‌دهند که جایگزینی اسید آمینه متیونین به جای والین در موقعیت شماره ۶۶ موجب کاهش اندازه بافت هیپوکامپ مغز می‌شود. این افراد به اختلال حافظه و یادگیری دچار می‌شوند. در این مقاله تلاش بر این است که اطلاعات مربوط به BDNF از سطح ژن تا پروتئین، به صورت مختصر ارائه گردد.

کلمات کلیدی

آزایمر، فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز، نوروتروفین‌ها، هیپوکامپ.

مقدمه

در سال 1980 Yves barde و همکارانش موفق به شناسایی و خالص سازی فاکتوری در مغز انسان شدند و آن را فاکتور نوروتروفیک با منشأ مغزی (BDNF¹) نامیدند و در سال 1989 گروه دیگری از محققین موفق به کلون کردن cDNA ژن آن شدند. BDNF از اعضای خانواده ی نوروتروفین ها است که در رشد و بقای گروه ویژه‌ای از نورون های گانگلیونی ریشه پشتی² نقش دارد [1]. این پروتئین در قسمت مخچه، جسم مخطط، آمیگدال، بخش قشری و هیپوکامپ که در یادگیری و حافظه نقش دارند بیان می‌شود [2]. فاکتور رشد عصبی³ از دیگر اعضای این خانواده است که در گونه های مختلف مهره داران شناسایی و اثرات حمایتی آنها بر گروه ویژه‌ای از نورون‌ها در سیستم عصبی مرکزی (CNS) و سیستم عصبی محیطی (PNS) مشخص شده است [1]. بررسی ها بر روی نوروتروفین ها نشان می دهد که این پروتئین‌ها در گونه‌های مختلف همولوژی زیادی (بین 90 تا

¹ Brain derived neurotrophic factor

² Dorsal root ganglion cells

³ Nerve growth factor

100 درصد) دارند (ساختمان کریستالی آنها نیز شناخته شده است). منطقه همولوگ شامل سه صفحه بتای غیر موازی است که باعث ایجاد یک هسته هیدروفوب می‌شود. قسمتهایی با کنفورماسیون حلقه⁴ و پیچ و همچنین بخش‌های انتهایی آمین و کربوکسیل در نوروتروفین‌ها با هم متفاوت است [3].

۱. ژن BDNF:

ژن رمزگردان پروتئین BDNF (OMIM:113505) در انسان بر روی کروموزوم 11 قرار دارد (11p14.1) و طولی حدود 70Kb دارد. این ژن در پستانداران دارای تعداد مجزایی پروموتور است که بیان مختص به بافت و تنظیم مستقل از هم دارند. ولی رونوشت حاصل از آنها دارای یک ویژگی مشابه است بدین معنی که همه‌ی آنها شامل 2 نوع اگزون‌اند [4]. اگزون‌های سر⁵ که اکثراً اگزون‌های غیر کد کننده‌اند⁵ و اگزون‌های سر³ که اگزون‌های کد کننده‌اند. اگزون‌های: VI, Vh, V, IV, III, II, I, VII, IX اگزون‌های سر⁵ هستند. اگزون‌های II, III, IV, V, Vh, VI و اگزون‌های غیر کد کننده‌اند. ترجمه از ATG اگزون IX آغاز می‌شود. شروع ترجمه از نقطه شروع در اگزون‌های I, VII و VIII منجر به ایجاد پری پروپروتئین BDNF می‌شود [5].

۲. تنظیم به واسطه تغییرات اپی ژنتیک و antiBDNF:

اپی ژنتیک اصلاحاتی است که می‌تواند به صورت حذف یا اضافه شدن مولکول‌های خاص بر روی DNA باشد و این امر به نوبه‌ی خود بر چگونگی تفسیر ژن‌ها توسط هسته‌ی سلول تاثیر می‌گذارد این تغییر ناشی از برهم‌کنش پیچیده‌ی محیط و ژنوم است [6]. تاثیر این مکانیسم به صورت متیلاسیون DNA و داستیلاسیون هیستون‌ها در تنظیم بیان رونوشت‌های BDNF نشان داده شده است. بعضی از فاکتورهای رونویسی مانند REST/NRSF با کمک فاکتورهای کمکی (Sin3A, HDAC1, HDAC2) با اتصال به پروموتور باعث مهار ژن BDNF می‌شوند. همچنین مشخص شده است که دمتیلاسیون DNA به وسیله‌ی 5AZadc⁷ باعث افزایش بیان ژن در سلول‌های گلیومای رت می‌شود. در این سلول‌ها مهار داستیلاسیون هیستون‌ها با TSA⁸ (این ترکیب آلی باعث مهار داستیلاسیون خانواده کلاس‌های I و II از هیستون‌های پستانداران می‌شود) باعث افزایش سطح رونوشت‌های BDNF (شامل اگزون‌های III/VII/IX) می‌شود [7, 8].

ژن antiBDNF حدوداً 191kb و شامل حداقل 10 اگزون است که رونویسی آن از یک پروموتور آغاز می‌شود. اگزون I تا IV ژن anti BDNF در پائین دست ژن BDNF قرار گرفته و اگزون V آن با 345bp با منطقه IXc و IXd هم پوشانی و اگزون VI آن با منطقه IXa از اگزون‌های کد کننده BDNF هم پوشانی دارد. اگزون‌های VII تا X آن هم در اینترون‌های ژن BDNF قرار گرفته‌اند. حدود 300 رونوشت به واسطه‌ی پردازش نهائی⁹ در آن شناخته شده که هیچکدام کد کننده پروتئین نیستند [5].



⁴. Loop

⁵. Non coding exon

⁶. Coding axon

⁷. 5-aza-2-deoxycytidine

⁸. Trichostatin A

⁹. Alternative splicing

شکل 1: ژن آنتی BDNF [9]

۳. چندشکلی در ژن BDNF:

چند شکلی¹⁰ شناخته شده در ژن BDNF با جانشینی اسید آمینه متیونین به جای والین در کدون 66 اتفاق می افتد و بنا بر مطالعات انجام شده، چند شکلی با افزایش استعداد ابتلا به اختلالاتی مثل آلزایمر، پارکینسون، افسردگی و همچنین بیماری های گوارشی همراه است [10]. مورفولوژی هیپوکامپ و قشر مغز در افراد حامل این چند شکلی (Val/Met) در مقایسه با افراد هموزیگوت از نظر اسیدآمینه والین (Val/Val) متفاوت است، به گونه ای که افراد حامل دارای هیپوکامپ کوچکتری نسبت به افراد هموزیگوت (Val/Val) هستند و این تغییر احتمالا به علت نقش BDNF در شکل پذیری¹¹ مغز است. این تغییر اندازه منجر به: (1) کاهش تکوین دندریتها (2) کاهش تعداد سلول های محافظ و نورونی و (3) افزایش مرگ سلولی یا کاهش نورون زائی¹² در طول تکوین جنینی می شود. در واقع، افراد حامل (Val/Met) یا افراد هموزیگوت از نظر اسیدآمینه متیونین (Met/Met) در مقایسه با افراد هموزیگوت برای اسیدآمینه Val دارای توانایی کمتری در یادآوری خاطرات، که هیپوکامپ در این فرایند نقش دارد، می باشد [11].

۴. انتقال و آزادسازی:

پروتئین BDNF ابتدا به صورت پری پروپروتئین در شبکه آندوپلاسمی سنتز می شود. به دنبال حذف پپتید نشانه، پروپپتید به شبکه گلژی منتقل می شود. پروپروتئین سرانجام از قسمت ترانس شبکه ی گلژی به گرانول های ترشچی وارد و با پرو هورمون کانونرتاز (pc1) بریده می شود که منجر به ساخت پروتئین بالغ می شود. علاوه بر کانونرتاز آنزیم های دیگری هم شناخته شده اند که در شبکه ی ترانس گلژی یا درون اندوزوم ها و یا در وزیکول های ترشچی قرار دارند و باعث برش پرو پپتید و در نتیجه ایجاد نوروتروفین بالغ می شوند. فیورین¹³ یکی از این سرین پروتئازها است که در برش BDNF نقش دارد. با این تفاوت که pc1 مخصوص سلول هایی است که با مسیر ترشچی تنظیم شده است [12, 13].

۵. پروتئین BDNF:

پروتئین BDNF رشد و تمایز نورون های جدید را القا می کند. این فرایند نورونز نامیده می شود. از طرفی همان طور که پیش تر ذکر شد حفاظت از گروه ویژه ای از نورون ها در سیستم عصبی مرکزی و محیطی را نیز برعهده دارد [14]. این پروتئین شامل 247 اسید آمینه است و به دو فرم مونومر و هومودایمر ردیابی شده است و نورون های قشری مغز موجب القای فعالیت آن می شوند [15]. پرو پروتئین ابتدا (32kDa) به صورت پردازش نشده سنتز می شود. فرم بالغ و پردازش شده پروتئین BDNF دارای وزن مولکولی 14KDa است (پروتئین 28kDa فرم کوتاه شده ی پروپروتئین و حد واسط پروتئین بالغ است). تشکیل BDNF 28KDa در شبکه آندوپلاسمی اتفاق می افتد ولی فرم بالغ در شبکه ی ترانس گلژی تشکیل می شود. در آزمایشی با جایگزینی اسیدآمینه آلانین به جای آرژنین در کدون شماره 54 مشخص شد که میزان پروتئین 28KDa کاهش می یابد ولی در سطح پروتئین بالغ هیچ تاثیری ندارد این آزمایش تائید کننده این موضوع است که پروتئین 28KDa فرم بینابینی اجباری در فرایند

¹⁰.Polimorphism

¹¹.Plasticity

¹².Neurogenesis

¹³.Furin

طبیعی تشکیل BDNF نیست. بررسی ها نشان می دهد که وزن مولکولی پروتئین 32KDa و 28KDa بعد از تیمار با N - گلیکاناز به 27KDa و 24KDa (به ترتیب) کاهش می یابد [16]. این پروتئین ها دارای منطقه ای برای اتصال کمپلکس کربوهیدراتها هستند. گلیکوزیلاسیون¹⁴ در نوتروفین ها یک عامل اساسی است و منطقه گلیکوزیله شده در همه ی نوتروفین ها حفاظت شده است. این مکان در بلوغ و انتقال پرو BDNF نقش مهمی دارد. وقتی N - گلیکوزیلاسیون با تونیکومایسین مهار شود میزان پروتئین بالغ BDNF کاهش می یابد که احتمالا به علت تاخوردگی نامناسب، نیمه عمر پروتئین های تازه سنتز شده کاهش می یابد [16]. پروتئین بالغ با اتصال به دو گیرنده TrkB¹⁵ و p75 در سطح سلولها فرایند رشد، تمایز و حفاظت عصبی را برعهده دارد. مسیر تنظیمی با گیرنده تیروزین کیناز به این صورت است که پس از اتصال لیگاند به گیرنده، خودفسفوریلایسیون روی اسیدآمیننه های تیروزین گیرنده اتفاق می افتد. این تغییر منجر به ایجاد محل اتصال برای گروهی از پروتئین های درون سلولی می شود. فعال شدن پروتئین های مذکور مسیره های تنظیمی مثل Ras-MAP¹⁶ را فعال و منجر به فسفوریلایسیون CREB¹⁷ می - شود [17]. گیرنده p75 پس از اتصال با BDNF، منجر به فعال شدن گیرنده NFkB می شود. در این مسیر تنظیمی مرگ سلولی (آپوپتوز) القا می شود. مطالعات اخیر نشان می دهند، ایزوفرمی از گیرنده تیروزین کیناز می تواند موجب مهار p75 و در نتیجه القای مرگ سلولی به واسطه BDNF شود [18, 19].

بیماری زایی BDNF: مطالعات نشان داده است که پروتئین BDNF با بیماری های متعددی در ارتباط است که در ادامه به سه مورد آن اشاره می گردد:

BDNF و صرع: مطالعات نشان داده است که میزان بیان mRNA BDNF در قسمت جلوئی مغز¹⁸ بعد از حمله های صرعی تغییر می کند. تغییر بیان mRNA در هیپوکامپ، قسمتی از کورتکس و هیپوتالاموس دیده شده است. افزایش میزان mRNA ی القا شده با حمله های صرعی زودگذر است. ولی افزایش میزان پروتئین برای مدت زمان زیادی ماندگار است (حداقل 4 روز در هیپوکامپوس و کورتکس باقی می ماند). از آنجایی که BDNF در تهییج نورونی (عاملی که باعث القای تغییرات در رشد آکسون ها و مورفولوژی سیناپس ها می شود) موثر است و چون افزایش این پروتئین بعد از حمله های صرعی برای مدت زمان طولانی در بالاترین سطح خود باقی می ماند پس احتمالا BDNF و گیرنده آن در ایجاد این حمله ها نقش دارند [20, 21].

BDNF و افسردگی: افسردگی یکی از معضلات دنیای امروز است که بیش از 17 درصد از جمعیت جهان به این وضعیت دچار می شوند درسالهای اخیر بین این بیماری و مکانیسم هائی که در محافظت از بقای سلول و شکل پذیری نورو ن ها در مغز دخالت دارند ارتباطی دیده شده است. با قرار دادن این اطلاعات در کنار هم به این نتیجه می رسیم که نوتروفین ها با افسردگی در ارتباط اند. یافته های حاصل از بررسی ها در انسان و مدل های حیوانی این موضوع را تأیید می کنند [22]. افزایش میزان BDNF در افرادی که تحت درمان با داروهای ضد افسردگی قرار گرفته اند دیده شده است. این داروها باعث تنظیم بیان رونوشت های BDNF از طریق پروموتورهای مختلف می شوند. از طرفی مشخص شده که بین پلی مورفیسم ژن BDNF و ریسک ابتلا به افسردگی و حتی پاسخ بیماران به درمان ارتباط مستقیم وجود دارد [23]. سطح پروتئین BDNF و گیرنده TrkB در منطقه هیپوکامپ در افراد مبتلا به افسردگی کاهش می یابد. تحقیقات نشان می دهد میزان BDNF تحت استرس نیز کاهش می یابد. از

¹⁴ N-linked glycosylation

¹⁵ Tyrosine kinase B

¹⁶ Mitogen-activated protein

¹⁷ Cyclic AMP-response element binding protein

¹⁸ Fore brain

طرفی فضای قشر جلویی مغز در افراد مبتلا به افسردگی در مقایسه با افراد نرمال کوچکتر است. احتمالاً کاهش بیان BDNF و گیرنده آن در این کاهش اندازه دخیل اند [24].

BDNF و آلزایمر: احتمالاً یکی از علل اولیه آلزایمر کاهش فاکتورهای نوروتروفینی و یا کاهش بیان گیرنده تیروزین کیناز است. آنچه در بیماری آلزایمر اتفاق می افتد تخریب نورون های کولی نرژیک در پیش مغز است. که در نتیجه ی این دژنره شدن میزان استیل کولین در کورتکس و هیپوکامپ کاهش می یابد. براساس بررسی های انجام شده القای فاکتور رشد عصبی در موشهای مسن می تواند باعث رفع تخریب نورونهای کولی نرژیک و در نتیجه تصحیح اختلال حافظه شود. کاهش BDNF به عنوان کاهش یک عامل محافظت کننده در نظر گرفته می شود که در حفاظت تعدادی از نورون ها در مقابل دژنره شدن دخالت دارد [25]. علاوه بر این BDNF در ارتباط های سیناپسی هم موثر است. نقصان ارتباط سیناپسی در این بیماری تاییدی بر نقش محافظتی BDNF در ابتلا به آلزایمر می باشد. همچنین همان طور که پیش تر ذکر شد چند شکلی VAL66MET با فرایندهای مرتبط با حافظه نقش دارد که خود میتواند عامل دیگری در ابتلا به آلزایمر باشد [26].

جمع بندی:

پروتئین BDNF یکی از چندین نوع نوروتروفین سنتز شده در مغز انسان و احتمالاً یکی از فعال ترین و مهمترین آنها است. نقش این پروتئین در رشد، بلوغ و تمایز نورونی اثبات شده است. از طرفی یکی از عوامل تحریک و کنترل نورونز است. تنظیم بیان این ژن پیچیده و به واسطه حضور چند نوع پروموتور، تغییرات اپی ژنتیک و همچنین RNA آنتی سنس است. سنتز این پروتئین در شبکه آندوپلاسمی آغاز و سرانجام پروتئین بالغ از دستگاه گلژی آزاد می شود. اتصال BDNF به گیرنده مخصوص خود در سطح سلول ها، منجر به تنظیم مسیرهای بیوشیمیایی خاصی می شود. هرگونه اختلال در سنتز، بلوغ، تغییر در بیان و اتصال به گیرنده می تواند منجر به بروز بیماری هایی چون صرع، افسردگی آلزایمر و ... شود.

منابع:

- [1] Hohn A, Leibrock J, Bailey K, Barde YA, Thoenen HFE, Maisonpierre PC, et al. Neurotrophin-3, a novel neurotrophic factor related to nerve growth factor and brain derived neurotrophic factor. Google Patents; 2002.
- [2] Cunha C, Brambilla R, Thomas KL. **A Simple Role for BDNF in Learning and Memory?** *Frontiers in Molecular Neuroscience* 2010;3:1.
- [3] Neumann. GDaH. Madame Curie Bioscience Database [Internet]. Landes Bioscience 2013.
- [4] Cattaneo A, Cattane N, Begni V, Pariante CM, Riva MA. **The human BDNF gene: peripheral gene expression and protein levels as biomarkers for psychiatric disorders.** *Translational Psychiatry* 2016;6(11):e958.
- [5] Pruunsild P, Kazantseva A, Aid T, Palm K, Timmusk T. **Dissecting the human BDNF locus: Bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters().** *Genomics* 2007;90(3):397-406.
- [6] Handy DE, Castro R, Loscalzo J. **Epigenetic Modifications: Basic Mechanisms and Role in Cardiovascular Disease.** *Circulation* 2011;123(19):2145-56.
- [7] Chao YC, Xie F, Li X, Guo R, Yang N, Zhang C, et al. **Demethylation regulation of BDNF gene expression in dorsal root ganglion neurons is implicated in opioid-induced pain hypersensitivity in rats.** *Neurochem Int* 2016;97:91-8.
- [8] Fukuchi M, Nakashima F, Tabuchi A, Shimotori M, Tatsumi S, Okuno H, et al. **Class I histone deacetylase-mediated repression of the proximal promoter of the activity-regulated**

cytoskeleton-associated protein gene regulates its response to brain-derived neurotrophic factor. *J Biol Chem* 2015;**290**(11):6825-36.

[9] Pruunsild P ,Kazantseva A, Aid T, Palm K, Timmusk T. **Dissecting the human BDNF locus: Bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters.** *Genomics* 2007;**90**(3):397-406.

[10] Chen Z-Y, Jing D, Bath KG, Ieraci A, Khan T, Siao C-J, et al. **Genetic Variant BDNF (Val66Met) Polymorphism Alters Anxiety-Related Behavior.** *Science (New York, NY)* 2006;**314**(5796):140-3.

[11] Kanellopoulos D, Gunning FM, Morimoto SS, Hoptman MJ, Murphy CF, Kelly RE, et al. **Hippocampal Volumes and the BDNF val66met Polymorphism in Geriatric Major Depression.** *The American journal of geriatric psychiatry : official journal of the American Association for Geriatric Psychiatry* 2011;**19**(1):13-22.

[12] Greenberg ME, Xu B, Lu B, Hempstead BL. **New insights in the biology of BDNF synthesis and release: implications in CNS function.** *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 2009;**29**(41):12764-7.

[13] Burnett LC, LeDuc CA, Sulsona CR, Paull D, Rausch R, Eddiry S, et al. **Deficiency in prohormone convertase PC1 impairs prohormone processing in Prader-Willi syndrome.** *The Journal of Clinical Investigation* 2017;**127**(1):293-305.

[14] Bathina S, Das UN. **Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications.** *Archives of Medical Science : AMS* 2015;**11**(6):1164-78.

[15] Bradshaw RA, Dennis EA. *Handbook of Cell Signaling, Three-Volume Set*: Elsevier Science; 2003.

[16] Mowla SJ, Farhadi HF, Pareek S, Atwal JK, Morris SJ, Seidah NG, et al. **Biosynthesis and Post-translational Processing of the Precursor to Brain-derived Neurotrophic Factor.** *Journal of Biological Chemistry* 2001;**276**(16):12660-6.

[17] Binder DK, Scharfman HE. **Brain-derived Neurotrophic Factor.** *Growth factors (Chur, Switzerland)* 2004;**22**(3):123-31.

[18] Bamji SX, Majdan M, Pozniak CD, Belliveau DJ, Aloyz R, Kohn J, et al. **The p75 Neurotrophin Receptor Mediates Neuronal Apoptosis and Is Essential for Naturally Occurring Sympathetic Neuron Death.** *The Journal of Cell Biology* 1998;**140**(4):911-23.

[19] Gentry JJ, Casaccia-Bonnel P, Carter BD. **Nerve Growth Factor Activation of Nuclear Factor κ B through Its p75 Receptor Is an Anti-apoptotic Signal in RN22 Schwannoma Cells.** *Journal of Biological Chemistry* 2000;**275**(11):7558-65.

[20] Devin K. Binder SDC, Christine M. Gall and Helen E. Scharfman. **BDNF and epilepsy: too much of a good thing?** *TRENDS in Neurosciences* 2001;**24**(1)

[21] Scharfman HE. **Brain-derived Neurotrophic Factor and Epilepsy—A Missing Link?** *Epilepsy Currents* 2005;**5**(3):83-8.

[22] Dwivedi Y. **Brain-Derived Neurotrophic Factor and Suicide Pathogenesis.** *Annals of medicine* 2010;**42**(2):87-96.

[23] Lee Y, Lim SW, Kim SY, Chung JW, Kim J, Myung W, et al. **Association between the BDNF Val66Met Polymorphism and Chronicity of Depression.** *Psychiatry Investigation* 2013;**10**(1):56-61.

- [24] Autry AE, Monteggia LM. **Brain-Derived Neurotrophic Factor and Neuropsychiatric Disorders.** *Pharmacological Reviews* 2012;**64**(2):238-58.
- [25] Tanila H. **The role of BDNF in Alzheimer's disease.** *Neurobiology of Disease* 2017;**97**, **Part B**:114-8.
- [26] Song JH, Yu JT, Tan L. **Brain-Derived Neurotrophic Factor in Alzheimer's Disease: Risk, Mechanisms, and Therapy.** *Mol Neurobiol* 2015;**52**(3):1477-93.