بررسی بیان فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در مایع مغزی- نخاعی و سرم کودکان مبتلا به هیدروسفالی

میر ساعد میری نرگسی[۱] (نویسنده مسئول mirsaedmiri@yahoo.com)*، محمد نبیونی[۲]، مسعود ملکی[۳]، هما محسنی کوچصفهانی[۲]، محمد ناجی[۴]، میثم یزدان خواه[۵]

۱- عضو هیات علمی گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن ۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت معلم، تهران

۳- عضو هیات علمی گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی،واحد اردبیل۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت معلم، تهران۵- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه تهران، تهران

چکیده

زمینه و هدف: هیدروسفالی یک بیماری است که در آن تولید غیرطبیعی مایع مغزی – نخاعی (CSF) در بطن ها و یا فضای زیر عنکبوتیه منجر به افزایش فشار درون جمجمه ای (ICP) می شود. فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) مهمترین فاکتور رگزایی است که در شرایط هیپوکسی فعال می شود. بنظر می رسد که در اثر افزایش ICP کشش اکسیژن به داخل بافت مغزی کاهش می یابد و در نتیجه رونویسی از ژن *VEGF* افزایش می یابد بنابراین هدف از مطالعه کنونی بررسی تغییرات VEGF در شرایط هیدروسفالی است.

روش کار: در این تحقیق بنیادی مایع مغزی – نخاعی کمری و سرم از ۲۵ کودک مبتلا به هیدروسفالی انسدادی و از ۲۰ کودک گروه کنترل که بین سال های ۱۳۸۷- ۱۳۸۵ به بیمارستان مرکز طبی کودکان تهران مراجعه کرده بودند، گرفته شد. غلظت کلی پروتئین و غلظت VEGF به ترتیب با استفاده از روش های بردفورد و ELISA اندازه گیری شد.

یافته ها: غلظت کلی پروتئین در نمونه ها ی بیمار نسبت به نمونه های کنترل افزایش معنی دار داشت ($p<۰/۰۵$) به همین ترتیب غلظت VEGF در سرم بیماران نیز اندکی افزایش یافته بود ولی این افزایش معنی دار نبود. غلظت VEGF در CSF بیماران نسبت به کودکان گروه کنترل افزایش بسیار معنی داری نشان داد ($p<۰/۰۰۱$).

نتیجه گیری: در شرایط عادی *VEGF* به مقدار کم در مغز بیان می شود. در مقابل در هیپوکسی موضعی یا سیستمیک؛ نورون ها ،آستروسیت ها و سلول های میکروگلیا بیان *VEGF* را افزایش می دهند. این مطالعه نشان دهنده افزایش بیان *VEGF* در شرایط هیپوکسی در CSF و نیز نقش آن در فیزیوپاتولوژی هیدروسفالی است.

واژگان کلیدی: فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، هیدروسفالی، مایع مغزی-نخاعی.

مجله زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی

واحد گرمسار،۱۳۸۸، دوره۴، شماره۳، ۳۹-۳۱

Expression of VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) in Cerebrospinal Fluid (CSF) and Serum of Children with Hydrocephalus

Mirsaed Mirri Nargesi[1*], Mohammad Nabiuni[2], Masoud Maleki[3] ,Homa Mohseni ouchesfahani[2], Mohammad Naji[4], Meysam Yazdankhah[5]

1- Department of biology, Islamic Azad University, Tonekabone Branch, Mazandaran, Iran. 2- Assistant professor, Department of biology, Tarbiat Moallem University, Tehran, Iran.3- Department of biology, Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, Iran.4- MSc student, Department of biology, Tarbiat Moallem University, Tehran, Iran.5- MSc student, Department of biology, University of Tehran, Tehran, Iran.

Abstract

Background: Hydrocephalus is a condition in which there is an abnormal build-up of cerebrospinal fluid within the ventricles and/or subarachnoid space, which leads to elevated intracranial pressure (ICP). VEGF is the prime hypoxia inducible angiogenic factor. We assumed that increased ICP leads to reduced oxygen tension in brain tissue, which triggers *VEGF* gene transcription so, in the current work we aimed to study VEGF alternation in hydrocephalus.

Material and Method: Measurements were performed on CSF and serum aliquots obtained from control (n=20) and hydrocephalic patients (n=25), age- and sex-matched, were collected by lumbar puncture (LP) in the children hospital medical center of Tehran from 2006 to 2008. VEGF and total protein concentrations were determined by enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) and Bradford method, respectively.

Results:VEGF and total protein concentrations were significantly elevated in hydrocephalus CSF samples compared with those in controls ($p<0.05$, $p<0.001$, respectively). There was only a slight insignificant elevation in serum VEGF concentrations.

Conclusion: Under normal conditions there is only diffuse expression of VEGF in the brain. In contrast, under local or systemic hypoxia, neurons, astrocytes, and microglial cells all show enhanced VEGF expression. The present study shows that VEGF concentrations are much higher in the CSF of children with hydrocephalus than in control samples and VEGF may be involved in hydrocephalus pathophysiology.

Key Words: Vascular Endothelial Growth Factor, Hydrocephalus, Cerebrospinal Fluid.

مجله زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی

واحد گرمسار،۱۳۸۸، دوره۴، شماره۳، ۳۹- ۳۱

www.SID.ir

مقدمه

هیدروسفالی توسط شرایط متنوع غیر وابسته به هم نظیر خونریزی درون بطنی، منتژیت، ضربه مغزی، تومور و غیره ایجاد می شود. بسته شدن مسیر حرکت مایع مغزی- نخاعی (CSF)[1]، باز جذب نا کافی و یا تولید بیش از حد آن باعث تجمع غیر طبیعی مایع مغزی- نخاعی و در نتیجه افزایش فشار درون جمجمه ای (ICP)[2] و بزرگ شدن بطن های مغزمی شود [۲،۱]. هیدروسفالی به طور تقریبی در ۱ کودک از ۱۰۰۰ کودک متولد شده مشاهده می‌شود (مادرزادی)، البته این بیماری به دلایل مختلف پس از تولد نیز می‌تواند رخ دهد (اکتسابی) [۳]. شواهد موجود نشان می دهند که مایع مغزی ـ نخاعی در رشد و نمو و عملکرد مغز نقش مهمی دارد. نشان داده شده است که تغییر غلظت فاکتورهای رشد و سیتوکین های مایع مغزی- نخاعی در ارتباط با نا هنجاری های رشد ونموی و نورولوژیک است [۷-۴]. تغییر در بیان برخی از این فاکتورهای رشد می تواند منجر به عدم تعادل بین تولید و باز جذب مایع مغزی- نخاعی شود. افزایش غلظت فاکتور رشد فیبروبلاست-۲ (FGF-2)[3] [۷] و TGF-β[4] [۶] در مایع مغزی- نخاعی باعث القا هیدروسفالی می شود. افزایش بیان فاکتور رشد عصبی (NGF)[5] نیز در رت HTx[6]، مدل شناخته شده برای هیدروسفالی، در حین پیشرفت بیماری نشان داده شده است [۸].

پس از مطالعات دقیقی که بر روی مدل HTx انجام شد؛ مشخص شد که نازکی کورتکس مغز به علت افزایش فشار درون جمجمه ای نمی باشد بلکه کاهش میزان تکثیر سلولی و مهاجرت زودرس نورون ها بصورت نابالغ باعث نازکی کورتکس مغز می شود. در واقع تجمع فاکتورهای رشد در مایع مغزی- نخاعی در اثر مسدود شدن جریان طبیعی آن می تواند عامل ایجاد کننده نا هنجاری های مشاهده شده در هیدروسفالی باشد. زیرا اثرات این فاکتورها بشدت تحت تاثیر غلظت آن ها می باشد و در غلظت های فراتر از حد طبیعی نه تنها از رشد و نمو طبیعی حمایت نمی کنند بلکه باعث ایجاد اثرات معکوس نیز می شوند [۱۰،۹].

فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)[7] یکی از مهمترین فاکتورهایی است که در شرایط هیپوکسی بیان می شود. mRNA این فاکتور در مغز انسان و جوندگان به مقادیر بسیار کم مشاهده شده است [۱۲،۱۱]. افزایش بیان *VEGF* در مغز جوندگان پس از صدمات هیپوکسیک و هیپوکسی سیستمیک طولانی مدت [۱۷-۱۳] و در انسان پس ایسکمیک حاد نشان داده شده است [۱۸]. شواهد اخیر نشان می دهند که VEGF دارای اثرات مستقیمی بر سلول های عصبی نیز می باشد. VEGF باعث رشد به بیرون آکسون ها و بقای نورون ها می شود و به علاوه دارای اثرات نوروتروفیک بر کشت سلول های عصبی نیز هست [۲۰،۱۹]. استفاده از آنتی بادی خنثی کننده VEGF باعث کاهش رگ زایی و تکثیر سلول های گلیال و نیز افزایش تحلیل سلول های اندوتلیال و آستروگلیال می شود [۲۱]. گستردگی اثرات VEGF بر سلول های بافت عصبی باعث شده است که آن را به عنوان یک فاکتور نوروتروفیک جدید در نظر بگیرند [۲۲]. در مجموع با توجه به یافته های جدید مبنی بر اهمیت فاکتور های نوروتروفیک مایع مغزی- نخاعی در فیزیوپاتولوژی هیدروسفالی و نیز اثرات بارز VEGF بر سلول های عصبی و نقش مهم آن در واکنش به هیپوکسی؛ هدف از مطالعه کنونی بررسی میزان بیان این فاکتور در شرایط هیدروسفالی و ایجاد دورنمایی برای مطالعات بیشتر در راستای افزایش درک از شرایط این بیماری بوده است.

[1] Cerebrospinal fluid
[2] Intracranial pressure
[3] Fibroblast growth factor-2
[4] Transforming growth factor- beta
[5] Nerve growth factor
[6] Hydrocephalic Texas rat
[7] Vascular endothelial growth factor

Archive of SID

www.SID.ir

روش کار

بیماران

نمونه های به کار گرفته شده در این مطالعه بنیادی از کودکان مبتلا به هیدروسفالی مادرزادی انسدادی که بین سال های ۱۳۸۷- ۱۳۸۵به بیمارستان مرکز طبی کودکان تهران مراجعه کرده بودند، گرفته شد. در این تحقیق بر اساس دستور العمل کمیته اخلاق در پژوهش گروه زیست شناسی دانشگاه تربیت معلم ابتدا رضایت کتبی از والدین کودکان اخذ و بر اساس این رضایت نامه انجام نمونه برداری زیر نظر پزشک متخصص جراحی اعصاب صورت پذیرفت و استفاده از نمونه ها در راستای این طرح پژوهشی میسر گردید.

خون و مایع مغزی- نخاعی کمری از کودکان زیر یکسال مبتلا به هیدروسفالی انسدادی (۱۳ پسر و ۱۲ دختر،۲۵= n)در حین عمل جراحی (برای قرار دادن شانت) گرفته شد. نمونه های کنترل از کودکان زیر یکسال که به علت مشکوک بودن به اختلالات عصبی تحت مکش کمری (LP)[1] قرار گرفته بودند، جمع آوری شد. پس از آزمایشات لازم آن تعداد از نمونه هائی که سلامت شان توسط آزمایشگاه بیمارستان تایید شده بود (۱۰ پسر و ۱۰ دختر n=۲۰) در این مطالعه به عنوان نمونه کنترل مورد استفاده قرار گرفتند. نمونه های مایع مغزی- نخاعی در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه در rpm ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و بلافاصله تا زمان استفاده به دمای ۸۰- درجه سانتی گراد منتقل شدند. نمونه های خون برای بدست آوردن سرم در rpm ۵۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم حاصل در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگه داری شد.

آنالیز پروتئینی

غلظت کلی پروتئین در نمونه ها با استفاده از روش بردفورد(Bradford protein assay) بدست آمد. ۵ تا ۵۰ میکرولیتر از نمونه های مایع مغزی-نخاعی پس از رساندن به حجم ۱۰۰ میکرولیتر با محلول بردفورد (Coomassie Brilliant Blue G-250 ٪۰/۰۱ (Sigma)، ۵٪ اتانول ۹۵٪، ۱۰٪ اسید فسفوریک ۸۵٪) مخلوط شدند. با استفاده از نمودار استاندارد حاصل از غلظت های مختلف آلبومین سرم گاوی و جذب نوری نمونه ها پس از ۵ دقیقه واکنش با محلول بردفورد در طول موج ۵۹۵ نانومتر، غلظت پروتئین نمونه ها محاسبه شد. برای اندازه گیری غلظت VEGF از کیت های ELISA[2] تجاری (R&D Systems, Abingdon, UK) استفاده شد. تمام مراحل آزمایش بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام شد. در این آزمایش غلظت ایزوفرم $VEGF_{۱۶۵}$ به عنوان فعالترین و فراوان ترین شکل زیستی این ملکول اندازه گیری شده است. کیت استفاده شده به گونه ای طراحی شده است که نمونه ها پیش از اندازه گیری نیاز به فعال سازی ندارند و غلظت کل فاکتور در نمونه ها اندازه گیری شده است. برخلاف بسیاری از فاکتور های رشد که اندازه گیری آن ها در سرم نیاز به رقیق کردن سرم دارد، اندازه گیری VEGF به علت سطح پایین آن نیاز به چنین مرحله ای ندارد. بطور خلاصه، پس از اضافه کردن نمونه های مایع مغزی- نخاعی و سرم به هر چاهک، آنتی بادی کانژوگه و سوبسترا اضافه شد و جذب نوری در ۴۵۰ نانومتر برای به بدست آوردن غلظت VEGF استفاده شد.

در تحقیق حاضر اختلاف بین سطح فاکتور اندوتلیال عروقی در مایع مغزی- نخاعی و سرم خون بیماران و غلظت کلی پروتئین در نمونه های مغزی - نخاعی با استفاده از روش آزمون آماری Mann-Whitney U test آنالیز گردید و مقادیر ($p<۰/۰۵$) معنی دار ارزیابی شدند.

یافته ها

غلظت کلی پروتئین در ۲۵ نمونه بیمار (۱/۳۷±۰/۴mg/ml) بطور معنی دار($p<۰/۰۵$) نسبت به ۲۰ نمونه کنترل (۰/۴۲±۰/۰۷ mg/ml) افزایش نشان می دهد (نمودار .۱) در مایع مغزی- نخاعی بیماران غلظت

[1] Lumbar puncture

[2] Enzyme linked immunosorbent assay

Archive of SID
www.SID.ir

VEGF (۷۸/۶±۳۱/۹ pg/ml) نسبت به نمونه های کنترل (۷/۲±۰/۸ pg/ml) بصورت کاملا معنی دار ($p<۰/۰۰۱$) افزایش یافته است (نمودار ۲.). غلظت VEGF در سرم بیماران (۳۸۳/۲±۵۰/۱ pg/ml)، به عنوان شاخصی که می تواند نشان دهنده تغییرات سیستمیک این فاکتور باشد، نسبت به نمونه های کنترل (۳۵۱/۴±۵۵/۳ pg/ml) افزایش اندکی نشان داده است ولی این افزایش معنی دار نمی باشد (نمودار ۳.).

بحث

در تحقیق حاضر بیان VEGF به عنوان مهمترین فاکتور رگزایی و یک فاکتور نوروتروفیک جدید در CSF و سرم کودکان مبتلا به هیدروسفالی بررسی شده است. این مطالعه نشان می دهد که غلظت VEGF در مایع مغزی- نخاعی و سرم کودکان مبتلا به هیدروسفالی بیش از گروه کنترل است. تفاوت عمده این تحقیق با سایر تحقیقاتی که فاکتورهای مایع مغزی- نخاعی را در بیماران هیدروسفالی اندازه گیری کردند این است که در مطالعات گذشته نمونه های مایع مغزی- نخاعی گروه کنترل از ناحیه کمر (LP) نوزادان گرفته می شد ولی از مایع مغزی- نخاعی بطنی (shunt) که از بطن ها در حین عمل جراحی برای قرار دادن لوله شانت خارج می شد، بعنوان نمونه بیمار استفاده می شد. نشان داده شده است که ترکیب مایع مغزی- نخاعی در طی حرکت آن از شبکه کوروئید تا محل های بازجذب تغییر می کند و مایع مغزی- نخاعی بطنی و کمری موجود در فضای زیر عنکبوتیه ترکیب متفاوتی دارند [۲۳] لذا مقایسه این دو نمونه با هم صحیح نمی باشد.

معمولا تغییرات غلظت کلی پروتئینی را به عنوان شاخصی برای مقایسه با تغییرات فاکتور مورد نظر در جهت روشن شدن اهمیت فیزیوپاتولوژیکی آن فاکتور در نظر می گیرند. در این تحقیق غلظت کلی پروتئین در مایع مغزی- نخاعی بیماران افزایش چشم گیری را نسبت به نمونه های کنترل نشان می دهد. در حالیکه غلظت کلی پروتئین مایع مغزی- نخاعی بیماران حدودا ۴ برابر افزایش یافته است سطح فاکتور VEGF در مایع مغزی- نخاعی بیماران حدودا ۱۰ برابر افزایش نشان می دهد. یافته های غلظت کلی پروتئین در مطالعه حاضر مطابق تحقیقاتی است که غلظت کلی پروتئین را در مایع مغزی- نخاعی کودکان سالم در محدوده ۰/۱-۰/۴۴ mg/ml گزارش داده اند [۲۴]. عوامل مختلفی می توانند منجر به این افزایش غلظت شوند که از آن جمله می توان به مسدود شدن جریان طبیعی مایع مغزی- نخاعی و تجمع آن اشاره کرد البته انسداد حاصله یک انسداد صد در صد نمی باشد [۹]. با توجه به افزایش نا چیز سطح این فاکتور در سرم می توان افزایش VEGF در مایع مغزی- نخاعی را مربوط به افزایش بیان این ژن توسط سلول های خاصی در مغز دانست. از طرفی دیگر هر چند غلظت VEGF در مایع مغزی- نخاعی بیماران بسیار بالاتر از نمونه های کنترل است ولی این عامل نمی تواند باعث افزایش مشاهده شده در غلظت VEGF در سرم شود زیرا حجم کل مایع مغزی- نخاعی بسیار پایین تر از سرم است و ورود پروتئین های آن به سرم بخاطر رقیق شدن در یک حجم زیاد قابل ارزیابی نیست. افزایش بیان سایر فاکتورها از قبیل NSE[1]، MBP[2]، GFAP[3]، S100 ، NGF و NT-3[4] نیز در مایع مغزی- نخاعی کودکان مبتلا به هیدروسفالی نشان داده شده است [۲۷-۲۵].

مشاهدات بافت شناسی نشان داده است که مغز در شرایط افزایش فشار درون جمجمه ای یعنی هیدروسفالی بطور پیشرونده دچار آسیب سلولی گسترده می شود و آستروسیت های بسیاری در بافت مغز ظاهر می شوند که جای نورون های آسیب دیده را می گیرند [۲۶] و این تغییر جمعیت سلولی به عنوان یکی از عوامل تغییر ترکیب ماتریکس خارج سلولی مغز و نیز مایع مغزی- نخاعی در طول این بیماری پیشنهاد شده است. در شرایط عادی VEGF به مقدار کم در مغز بیان می شود و فقط برخی از

[1] Neuron specific enolase
[2] Myelin basic protein
[3] Glial fibrillary acidic protein
[4] Neurotrophin-3

Archive of SID

www.SID.ir

سلول های تخصص یافته در اپی تلیوم شبکه کوروئید آن را تولید می کنند [۲۸] ولی در طی هیپوکسی موضعی و یا سیستمیک، نورون ها، آستروسیت ها و سلول های میکروگلیا افزایش بیان VEGF را نشان می دهند [۳۵-۲۹].

از طرف دیگر اثبات شده است که VEGF اثرات میتوژنیک بر آستروسیت ها و نورون ها دارد و باعث افزایش بقای آن ها نیز می شود [۳۶]. افزایش رگ زایی و نفوذپذیری عروق در اثر VEGF در بافت مغز به اثبات رسیده است [۳۸،۳۷]. رگ زایی در اثر VEGF ممکن است اکسیژن رسانی را افزایش دهد زیرا نشان داده شده است که بکارگیری موضعی VEGF باعث کاهش آسیب های حاصل از ایسکمی در بافت مغز می شود [۲۹]. با این وجود این احتمال نیز وجود دارد که VEGF باعث ایجاد ادم و یا تخریب سد خونی- مغزی شود [۴۰،۳۹] که می تواند منجر به افزایش فشار درون جمجمه ای و ایجاد التهاب بطور ثانویه شود.

در نتیجه از یک سو آستروگلیوزیس در هیدروسفالی می تواند منشا افزایش بیان VEGF باشد ولی VEGF تولید شده می تواند در یک فیدبک مثبت تکثیر آستروسیت ها را تحریک کند و باعث بدتر شدن آسیب های مغزی شود. از سوی دیگر ترشح اولیه VEGF به عنوان عاملی که می تواند سلول های مغزی را در شرایط هیپوکسی از مرگ سلولی نجات دهد خود می تواند به یک فاکتور آسیب رسان تبدیل شود زیرا افزایش غلظت VEGF باعث آسیب های شدید به سد خونی – مغزی می شود. بنابراین در هیپوکسی حاصل از هیدروسفالی هر چند بیان VEGF به عنوان بخشی از یک مکانیسم جبرانی افزایش می یابد ولی در ادامه با افزایش بیان مزمن آن، VEGF خود به یک عامل مخرب می تواند تبدیل شود. به همین دلیل جراحی برای کارگذاری شانت از اولین اقداماتی است که برای درمان این کودکان صورت می گیرد زیرا افزایش ICP از یک سو باعث فشردگی بی بازگشت کورتکس می شود و از سوی دیگر افزایش ICP بصورت مزمن می تواند تحریک کننده ترشح فاکتورهایی مانند VEGF باشد که در طولانی مدت نه تنها منجر به افزایش مقاومت سلول ها نمی شود بلکه آسیب های غیر قابل جبرانی را به بافت مغز وارد می کند.

نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر به گونه ای است که می توان گفت که تغییر غلظت VEGF در شرایط هیدروسفالی مربوط به انسداد جریان مایع مغزی- نخاعی نبوده و این تغییر چشم گیر در مقابل تغییر مشاهده شده در غلظت کلی پروتئین نشان دهنده افزایش بیان VEGF توسط سلول های مغز در شرایط هیپوکسی حاصل از هیدروسفالی می باشد.

منابع

1. Braun KP, Van EP, Vandertop WP, Graaf RA, Gooskens RH, Tulleken KA, et al. Cerebral metabolism in experimental hydrocephalus: an in vivo 1H and 31P magnetic resonance spectroscopy study. J Neurosurg 1999; 91:660-8.
2. Tashiro Y, Chakrabortty S, Drake JM, Hattori T. Progressive loss of glutamic acid decarboxylase, parvalbumin, and calbindin D28K immunoreactive neurons in the cerebral cortex and hippocampus of adult rat with experimental hydrocephalus. J Neurosurg 1997; 86:263-71.
3. Bagley RS. Common neurological diseases of older animals. Vet Clin North Am Small Anim Pract 1997;27:1451-86.
4. Johanson CE, Jones HC. Promising vistas in hydrocephalus and cerebrospinal fluid research. Trends Neurosci 2001; 24:631–32.
5. Xia YX, Ikeda T, Xia XY, Ikenoue T. Differential neurotrophin levels in cerebrospinal fluid and their changes during development in newborn rat. Neurosci Lett 2000; 280:220–222.
6. Moinuddin SM, Tada T. Study of cerebrospinal fluid flow dynamics in TGF-beta 1 induced chronic hydrocephalic mice. Neurol Res 2000; 22:215–222.
7. Johanson CE, Szmydynger-Chodobska J, Chodobski A, Baird A, McMillan P, et al. Altered formation and bulk absorption of cerebrospinal fluid in FGF-2-induced hydrocephalus. Am J Physiol 1999;277:263–71.
8. Miyajima M., Sato K., Arai H. Choline acetyltransferase, nerve growth factor and cytokine levels are changed in congenitally

Archive of SID

www.SID.ir

hydrocephalic HTx rats. Pediatr Neurosurg. 1996; 24:1–4.
9. Mashayekhi F, Draper CE, Bannister CM, Pourghasem M, Owen-Lynch PJ, Miyan JA. Deficient cortical development in the hydrocephalic Texas (H-Tx) rat: a role for CSF. Brain 2002; 125:1859–1874.
10. Owen-Lynch PJ, Draper CE, Mashayekhi F, Bannister CM and Miyan JA. Defective cell cycle control underlies abnormal cortical development in the hydrocephalic Texas rat. Brain 2003; 126:623-631.
11. Shibuya M. Brain angiogenesis in developmental and pathological processes: therapeutic aspects of vascular endothelial growth factor. FEBS J. 2009; 276(17):4636-43.
12. Sun FY, Guo X. Molecular and cellular mechanisms of neuroprotection by vascular endothelial growth factor. J Neurosci Res. 2005; 79:180-4.
13. Papavassiliou E, Gogate N, Proescholdt M, Heiss JD, Walbridge S, Edwards NA, et al. Vascular endothelial growth factor (vascular permeability factor) expression in injured rat brain. J Neurosci Res 1997; 49:451–60.
14. Kuo NT, Benhayon D, Przybylski RJ, Martin RJ, LaManna JC. Prolonged hypoxia increases vascular endothelial growth factor mRNA and protein in adult mouse brain. J Appl Physiol 1999; 86:260–4.
15. Marti HH, Risau W. Systemic hypoxia changes the organ-specific distribution of vascular endothelial growth factor and its receptors. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95:15809–15814.
16. Patt S, Danner S, Theallier Janko A, Breier G, Hottenrott G, Plate KH, et al. Upregulation of vascular endothelial growth factor in severe chronic brain hypoxia of the rat. Neurosci Lett 1998; 252:199–202.
17. Xu F, Severinghaus JW. Rat brain VEGF expression in alveolar hypoxia: possible role in high-altitude cerebral edema. J Appl Physiol 1998; 85:53–7.
18. Issa R, Krupinski J, Bujny T, Kumar S, Kaluza J, Kumar P. Vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, in human brain tissue after ischemic stroke. Lab Invest 1999; 79:417–25.
19. Sondell M, Lundborg G, Kanje M. Vascular endothelial growth factor has neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell survival and Schwann cell proliferation in the peripheral nervous system. J Neurosci 1999; 19:5731–40.
20. Silverman WF, Krum JM, Mani N, Rosenstein JM. Vascular, glial and neuronal effects of vascular endothelial growth factor in mesencephalic explant cultures. Neuroscience 1999; 90:1529–41.
21. Krum JM, Khaibullina A. Inhibition of endogenous VEGF impedes revascularization and astroglial proliferation: roles for VEGF in brain repair. Exp Neurol 2003; 181:241–57.
22. Storkebaum E, Lambrechts D and Carmeliet P. VEGF: once regarded as a specific angiogenic factor, now implicated in neuroprotection. BioEssays 2004; 26:943–54.
23. Miyan JA, Nabiyouni M, Zendah M: Development of the brain: a vital role for cerebrospinal fluid. Can J Physiol Pharmacol 2003; 81:317-28.
24. Biou D, Benoist JF, Nguyen-Thi C, Huong X, Morel P, Marchand M. Cerebrospinal fluid protein concentrations in children: age-related values in patients without disorders of the central nervous system. Clin Chem 2000; 46:399–403.
25. Beems T, Simons KS, Van Geel WJA, De Reus HPM, Vos PE and Verbeek MM. Serum- and CSF-concentrations of brain specific proteins in hydrocephalus. Acta Neurochir 2003; 145: 37–43.
26. Mashayekhi F and Salehi Z. Expression of nerve growth factor in cerebrospinal fluid of congenital hydrocephalic and normal children. European Journal of Neurology 2005; 12:632–37.
27. Hochhaus F, Koehne P, Schäper C, Butenandt O, Felderhoff-Mueser U, Mrozik E et al. Elevated nerve growth factor and neurotrophin-3 levels in cerebrospinal fluid of children with hydrocephalus. BMC Pediatrics 2001; 1:2.
28. Marti HH, Risau W. Systemic hypoxia changes the organ-specific distribution of vascular endothelial growth factor and its receptors. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95:15809–14.
29. Hayashi T, Abe K, Suzuki H, Itoyama Y. Rapid induction of vascular endothelial growth factor gene expression after transient middle cerebral artery occlusion in rats. Stroke 1997; 28:2039–44.
30. Ran R, Xu H, Lu A, Bernaudin M, Sharp FR. Hypoxia preconditioning in the brain. Dev Neurosci. 2005; 27:87-92.

Archive of SID

www.SID.ir

31. Lennmyr F, Ata KA, Funa K, Olsson Y, Terent A. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors (Flt-1 and Flk-1) following permanent and transient occlusion of the middle cerebral artery in the rat. J Neuropathol Exp Neurol 1998; 57:874–82.
32. Ogunshola OO, Stewart WB, Mihalcik V, Solli T, Madri JA, Ment LR. Neuronal VEGF expression correlates with angiogenesis in postnatal developing rat brain. Brain Res Dev Brain Res 2000; 119:139–53
33. Papavassiliou E, Gogate N, Proescholdt M, Heiss JD, Walbridge S, Edwards NA, et al. Vascular endothelial growth factor (vascular permeability factor) expression in injured rat brain. J Neurosci Res 1997; 49:451–60
34. Pichiule P, Chavez JC, Xu K, LaManna JC. Vascular endothelial growth factor upregulation in transient global ischemia induced by cardiac arrest and resuscitation in rat brain. Brain Res Mol Brain Res 1999; 74:83–90.
35. Plate KH, Beck H, Danner S, Allegrini PR, Wiessner C. Cell type specific upregulation of vascular endothelial growth factor in an MCA-occlusion model of cerebral infarct. J Neuropathol Exp Neurol 1999; 58:654–66.
36. Rosenstein JM, Mani N, Silverman WF, Krum JM. Patterns of brain angiogenesis after vascular endothelial growth factor administration in vitro and in vivo. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95:7086–91.
37. Ment LR, Stewart WB, Fronc R, Seashore C, Mahooti S, Scaramuzzino D, et al. Vascular endothelial growth factor mediates reactive angiogenesis in the postnatal developing brain. Brain Res Dev Brain Res 1997; 100:52–61.
38. Nag S, Takahashi JL, Kilty DW. Role of vascular endothelial growth factor in blood-brain barrier breakdown and angiogenesis in brain trauma. J Neuropathol Exp Neurol 1997; 56:912–21.
39. Dobrogowska DH, Lossinsky AS, Tarnawski M, Vorbrodt AW. Increased blood-brain barrier permeability and endothelial abnormalities induced by vascular endothelial growth factor. J Neurocytol 1998; 27:163–73.
40. Mayhan WG. VEGF increases permeability of the blood-brain barrier via a nitric oxide synthase/cGMP-dependent pathway. Am J Physiol 1999; 276:1148–53.

Archive of SID

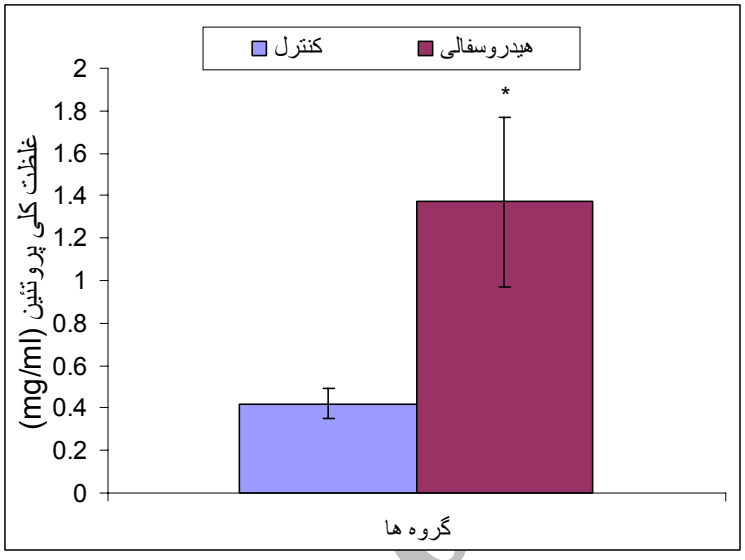
www.SID.ir

شرح نمودارها

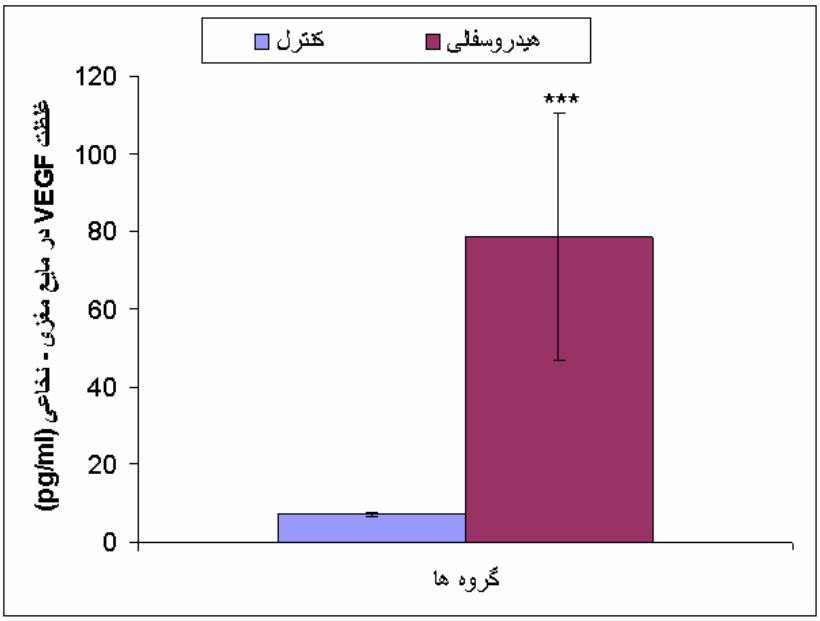
نمودار ۱. غلظت کلی پروتئین موجود در CSF بیماران هیدروسفالی نسبت به نمونه های کنترل ($p < ۰/۰۵$)

نمودار ۲. سطح فاکتور VEGF در CSF بیماران مبتلا به هیدروسفالی نسبت به نمونه های کنترل ($p < ۰/۰۰۱$)

نمودار ۳. سطح فاکتور VEGF در سرم بیماران مبتلا به هیدروسفالی نسبت به نمونه های کنترل

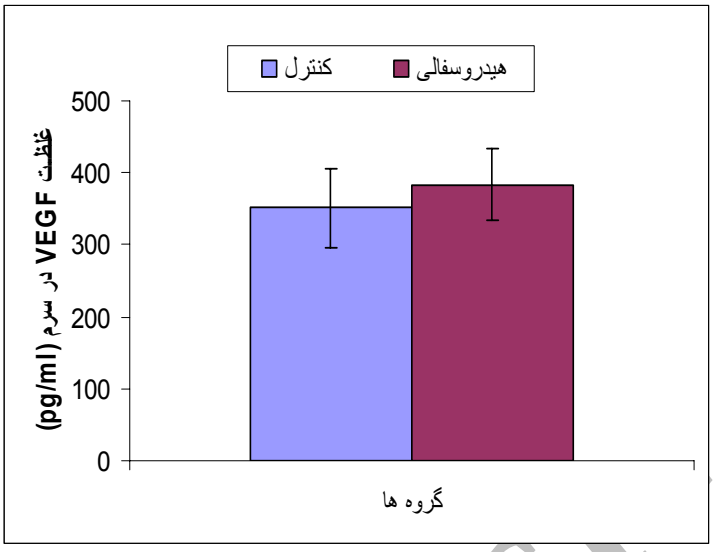


نمودار ۱



نمودار ۲

www.SID.ir



نمودار ۳

Archive of SID
www.SID.ir