

## بررسی اثرات مواجهه با PFOA در دوران بارداری بر بیان فاکتورهای نوروتروفین ۳ (NT3) و نوروتروفین ۴ (NT4) در مغز نوزادان تازه متولد شده‌ی موش صحرایی

ستار دوغی<sup>۱</sup>، زین‌العابدین شریفیان دستجردی<sup>۲</sup>، ناظم قاسمی<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** مطالعات قبلی نشان داده‌اند که اسید پرفلئورواکتانویک (PFOA (Perfluorooctanoic acid باعث ایجاد سمیت سلولی در اندام‌ها می‌شود. سطح بالایی از PFOA در خون بند ناف وجود دارد که ممکن است بر اندام‌زایی تأثیر بگذارد. در مطالعه‌ی حاضر، اثرات مواجهه با پرفلئورواکتانویک اسید در دوران بارداری بر بیان فاکتورهای نوروتروفین ۳ (NT3) و نوروتروفین ۴ (NT4) در مغز موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

**روش‌ها:** در این مطالعه، از مغز نوزادان ۳۵ موش صحرایی باردار نژاد ویستار استفاده شد. موش‌ها در پنج گروه شامل گروه‌های شاهد، شم و سه گروه دریافت‌کننده‌ی PFOA به میزان ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تقسیم شده بودند استفاده شد. در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی PFOA، این ترکیب بصورت روزانه گاواژ گردید. ۲۰ روز بعد از زایمان، با استفاده از روش‌های ELISA و Real Time PCR، بیان فاکتورهای NT۳ و NT۴ در مغز موش‌های نوزاد مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که میانگین بیان ژن و پروتئین‌های NT3 و NT4 در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی PFOA و ویژه در گروه‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم PFOA نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری داشت ( $P \leq 0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که مواجهه با PFOA در زمان حاملگی می‌تواند منجر به افزایش بیان فاکتورهای NT3 و NT4 شود. افزایش این عوامل با سرکوب اثرات اکسیدانی و آپاپتوزی PFOA، می‌تواند از بروز اختلالات عصبی ناشی از PFOA جلوگیری کند.

**واژگان کلیدی:** پرفلئورواکتانویک اسید؛ نوروتروفین ۳؛ نوروتروفین ۴؛ مغز؛ بارداری

**ارجاع:** دوغی ستار، شریفیان دستجردی زین‌العابدین، قاسمی ناظم. بررسی اثرات مواجهه با PFOA در دوران بارداری بر بیان فاکتورهای نوروتروفین ۳ (NT3) و نوروتروفین ۴ (NT4) در مغز نوزادان تازه متولد شده‌ی موش صحرایی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۳؛ ۴۲ (۷۷۵): ۶۰۴-۵۹۹.

### مقدمه

پرفلئورواکتانویک اسید (PFOA (Perfluorooctanoic acid نوعی ترکیب صناعی است که در ساختار شیمیایی آن تمام اتم‌های هیدروژن با اتم‌های فلئور جایگزین شده است. بدلیل تشکیل باندهای پر انرژی در ساختار PFOA، این ترکیب در برابر فتولیز، هیدرولیز و تجزیه‌ی زیستی مقاوم می‌باشد و باقی ماندن آن در محیط، باعث ایجاد آلودگی‌های زیادی در زنجیره‌ی غذایی می‌شود. PFOA در بسیاری از صنایع و تجهیزات شامل فوم‌های آتش‌نشانی، محصولات نساجی، آفت‌کش‌ها، پلاستیک، الکترونیک و مصالح ساختمانی استفاده می‌شود. برای اولین بار در مطالعه‌ی نشان داده شد که PFOA، باعث سمیت

کبدی می‌شود (۱). به دنبال این نتایج، مطالعات گسترده‌تری درباره‌ی این ماده صورت گرفت که نشان از رابطه‌ی معنی‌دار این ماده با برخی از بیماری‌ها داشت (۲). نتایج مطالعه‌ای که بر روی سطح سرمی لیپیدهای افرادی که ارتباط مستقیم با PFOA داشتند نشان داد که ارتباطی مستقیم بین سطح این ماده و کلسترول تام و LDL وجود دارد (۳). همچنین نتایج مطالعه‌ی دیگری نشان داد که PFOA می‌تواند خطر ریسک کلسترول بالاتر از ۲۴۰ mg/dL را افزایش دهد (۴). مطالعات انجام شده در بافت عصبی نشان می‌دهند که PFOA تأثیر سوء بر سیستم عصبی دارد. استفاده تک دوز ۷/۸ mg/kg PFOA در موش ۱۰ روزه می‌تواند باعث اختلالات حافظه‌ای، حساسیت

۱ - دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲ - استادیار، دانشکده‌ی پزشکی، گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳ - دانشیار، دانشکده‌ی پزشکی، گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: ناظم قاسمی؛ دانشیار، دانشکده‌ی پزشکی، گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

باردار در پنج گروه شامل گروه شاهد، گروه شم (گاواژ ۲ سی سی آب مقطر بصورت روزانه)، گروه‌های ۱ mg/kg، ۵، ۱۰ PFOA (گاواژ محلول PFOA از روز اول حاملگی تا پایان دوره بارداری)، قرار داده شدند. در پایان مطالعه و بعد از خارج کردن مغز نوزادان ۲۰ روزه، بررسی بیان ژن و پروتئین نوروتروفین ۳ و ۴ انجام گرفت.

#### روش Real Time PCR

این روش به منظور بررسی بیان ژن‌های NT3 و NT3 مورد استفاده قرار گرفت. مطابق مطالعه‌ی قبلی (۱۳) کل محتوای RNA موجود در بافت مغز با استفاده از کیت بافتی Total RNA Prep Kit محصول شرکت BioFACT استخراج گردید. در ادامه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، کیفیت و میزان RNA استخراج شده مورد ارزیابی قرار گرفت. در ادامه با استفاده از کیت مخصوص سنتز cDNA و دستگاه Stepone Plus Applied Biosystems و رنگ فلورسانس SYBR Green، تکثیر DNA صورت گرفت. در این مطالعه از ژن  $\beta$ -actin به عنوان ژن رفرانس (Housekeeping) استفاده گردید. در شکل شماره IB توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه نشان داده شده است.

#### روش Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

به منظور بررسی بیان پروتئین‌های NT3 و NT4، ابتدا نمونه‌های بافتی مغز با استفاده از فسفات بافر سالین سرد شسته شدند و سپس به صورت مکانیکی خرد شدند. در ادامه به نمونه‌ها بافر استخراج کننده اضافه گردید و سوسپانسیون حاصله توسط دستگاه سونیکاتور پروب به صورت همگن درآمد و سپس فرایند رقیق‌سازی انجام شد. در ادامه کار، ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌ی بافت به ۱۵۰ میکرولیتر بافر خنثی کننده اضافه گردید و مراحل الیزا انجام شد. بدین منظور ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌ها و هر یک از محلول‌های استاندارد و بلانک به چاهک‌های جداگانه‌ای اضافه گردید و بعد از انکوبه کردن به مدت ۹۰ دقیقه ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی ویژه برای تشخیص NT3 و NT4 به هر چاهک اضافه شد و بعد از پوشاندن آن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، بر روی یک شیکر (با دور ۱۴۰ دور در دقیقه) قرار داده شد. بعد از آسپیره کردن هر چاهک و شستشو با استفاده از PBS، ۱۰۰ میکرولیتر از 1x streptavidin-HRP conjugate به هر چاهک اضافه و در دمای اتاق، بر روی شیکر قرار داده شد. بعد از شستشو، ۱۰۰ میکرولیتر محلول بسترت Tetramethylbenzidine یا TMB یا سوبسترای کروموزنیک) به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و دور از نور انکوبه شد. در نهایت ۵۰ میکرولیتر محلول توقف به هر چاهک اضافه شد و با افزودن محلول توقف، مایع تغییر رنگ داده شده با استفاده از میکروپلیت خوان و در طول موج ۴۵۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت.

کولینرژیک، کاهش تحرک و پاسخ به نیکوتین می‌شود (۵). همچنین دوز مصرفی مزبور به طور قابل ملاحظه‌ای می‌تواند باعث افزایش سطح بیان پروتئین‌های Tau، GAP-43، Camk2 و سیناپتوفیزین شود (۵).

افزایش پروتئین Tau در بیماری‌های عصبی مختلفی دیده می‌شود که از این بین می‌توان به آلزایمر، مشکلات حرکتی، مشکلات زبانی، سندرم دان و اختلالات بینایی اشاره کرد (۶). افزایش پروتئین Tau در نورون، می‌تواند باعث فعال کردن آپوپتوز در این سلول‌ها شود (۷). در بررسی دیگری مشخص شد که این ترکیب می‌تواند باعث افزایش غلظت کلسیم در سلول‌های عصبی شود و فرایند آپوپتوز را القاء کند (۸). با توجه به بررسی‌های انجام شده، پرفلئورواکتانویک اسید باعث افزایش میزان هیدروژن پراکسید و مالون دی‌آلدهید می‌شود. هیدروژن پراکسید و مالون دی‌آلدهید، مارکرهایی هستند که فعالیت استرس اکسیداتیو PFOA را نشان می‌دهند. بنابراین فعالیت استرس اکسیداتیو PFOA باعث کاهش میزان Bcl2 و افزایش میزان P53 و BAX می‌شود که به دنبال آن آپوپتوز می‌تواند اتفاق بیفتد (۹، ۱۰).

نوروتروفین ۳ (NT-3)، سومین عضو از خانواده‌ی فاکتورهای رشد مشتق از نورون می‌باشد که در سال ۱۹۹۰ کشف شد. این فاکتور نقش بسیار مهمی در بقاء و تمایز نورونی در طی دوره‌ی تکاملی بر عهده دارد. فعالیت‌های بیولوژیکی این فاکتور توسط رسپتورهای تیروزین کینازی TrkC، TrkB و گیرنده فاکتور رشد عصبی با میل ترکیبی کم انجام می‌شود (۱۱). نوروتروفین ۴ (NT-4) چهارمین عضو از خانواده‌ی فاکتورهای رشد مشتق از نورون می‌باشد که در سال ۱۹۹۱ کشف شد. مطالعات نشان داده‌اند که این فاکتور در بقاء نورون‌های حرکتی (مسیر قشری نخاعی) نقش بسیار مهمی را ایفا می‌کند و بعد از آسیب‌های نخاعی گردن، باعث پیشبرد ترمیم آکسون می‌شود (۱۲).

بدلیل افزایش روزافزون تولید و استفاده از محصولات محتوی PFOA و نظر بر اینکه این ماده سمی به راحتی قادر به عبور از جفت و سد خونی مغزی می‌باشد و تاکنون در هیچ مطالعه‌ای اثرات مواجهه با این ترکیب در دوران بارداری بر بیان فاکتورهای نوروتروفینی ۳ و ۴ بررسی نشده است. این مطالعه با هدف ارزیابی بیان فاکتورهای نوروتروفین ۳ و ۴ در مغز نوزاد موش صحرایی به دنبال مواجهه با پرفلئورواکتانویک اسید در دوره‌ی بارداری انجام شد.

#### روش‌ها

##### گروه‌بندی

پژوهش تجربی حاضر بر روی مغز نوزادان ۳۵ عدد موش صحرایی نژاد ویستار در دانشکده‌ی پزشکی اصفهان و مطابق با اصول کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. موش‌های

تیمار با PFOA در مقایسه با گروه‌های شاهد و شم افزایش داشت اما این افزایش در گروه‌های ۱۰، ۵ mg/kg PFOA بصورت معنی‌دار مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ) (شکل ۲).

### بحث

مواد پر و پلی فلئوروالکیل (PFAS) گروهی از مواد شیمیایی مصنوعی هستند که به دلیل پایداری حرارتی، خواص آبگریز و اولئوفوبیک به طور گسترده در محصولات صنعتی و مصرفی استفاده می‌شوند. آن‌ها معمولاً به عنوان افزودنی در کاغذهای مقاوم در برابر روغن و آب، لباس، فرش، مواد بسته‌بندی مواد غذایی و ظروف آشپزخانه استفاده می‌شوند. غذاها و آب آشامیدنی منابع اصلی در معرض قرار گرفتن جمعیت عمومی هستند. اگرچه اسید پرفلوروکتان سولفونیک (PFOS) و اسید پرفلوروآکتانوفیک (PFOA) در تولید صنعتی در اکثر کشورهای غربی حذف شده‌اند، اما به دلیل ماندگاری طولانی و تجمع زیستی در پایش زیستی انسان، هنوز هم در سراسر جمعیت در سراسر جهان قابل تشخیص هستند.

نتایج مطالعات قبلی اثبات کرده است که جنین‌ها می‌توانند در معرض PFAS قرار گیرند زیرا این مواد شیمیایی می‌توانند به طور

نتایج حاصله با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ (version 25, IBM Corporation, Armonk, NY) و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس One way ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey مورد ارزیابی قرار گرفتند. مقدار  $P < 0/05$  به عنوان اختلاف میانگین داده‌ها از لحاظ آماری در نظر گرفته شد.

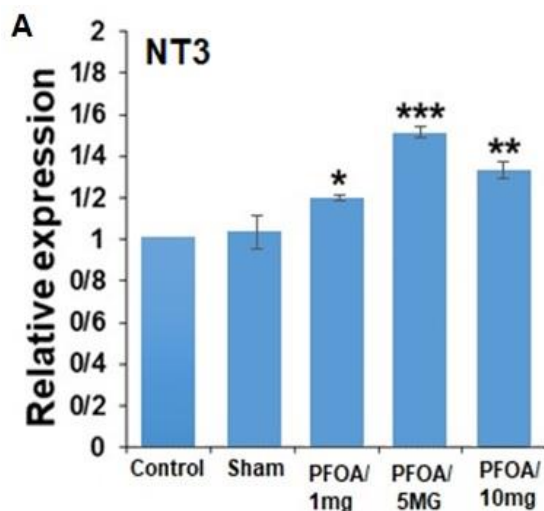
### یافته‌ها

#### تکنیک Real Time PCR و نتایج بررسی ژن NGF

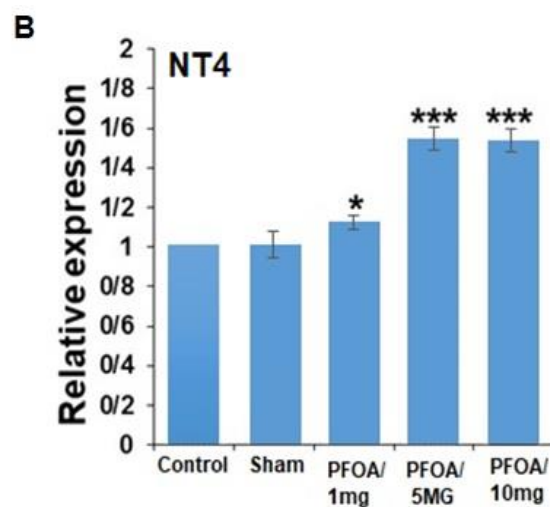
در گروه‌های تیمار با PFOA میزان بیان ژن NT3 در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم افزایش معنی‌داری داشت و به ترتیب در گروه ۱ mg/kg PFOA ( $P < 0/05$ )، در گروه ۵ mg/kg ( $P < 0/001$ ) و در گروه ۱۰ mg/kg PFOA ( $P < 0/01$ ) گزارش گردید (شکل 1A). همچنین میزان بیان ژن NT4 در گروه‌های دریافت‌کننده PFOA افزایش معنی‌داری داشت و به ترتیب در گروه ۱ mg/kg PFOA ( $P < 0/05$ ) و در گروه‌های ۱۰، ۵ mg/kg PFOA بصورت ( $P < 0/001$ ) گزارش گردید.

#### نتایج بیان پروتئین NGF با استفاده از تکنیک ELISA

نتایج نشان داد که بیان پروتئین‌های NT3 و NT4 در هر سه گروه

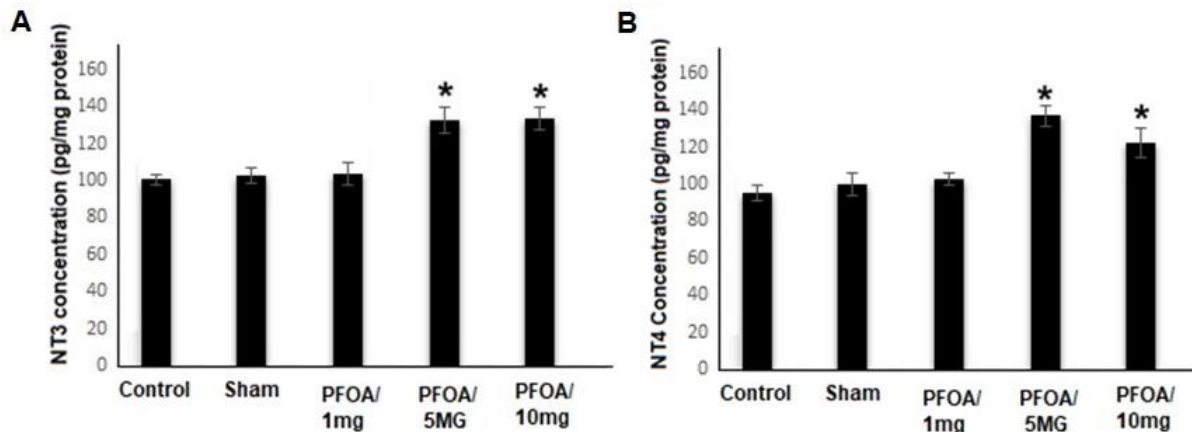


Nt-3-F	5'-CTGTGGGTGACCGACAAGTC-3'
Nt-3-R	5'-AAGTCAGTGCTCGGACGTAGG-3'
Nt-4-F	5'-CCCTGCGTCAGTACTTCTCGAGAC-3'



Nt-4-R	5'-CTGGACGTCAGGCACGGCCTGTTC-3'
B-Actin-F	5'-CAGCTATGTGGGGGACGAAG-3'
B-Actin-R	5'-TCCGTTAGCAAGGTCGGATG-3'

شکل ۱. نتایج تکنیک Real-Time PCR و توالی پرایمرهای استفاده شده. A: مقایسه‌ی میزان بیان ژن‌های NT3 و NT4 در گروه‌های تیمار با گروه‌های شاهد و شم (\*: بیانگر  $P < 0/05$ , \*\*: بیانگر  $P < 0/01$  و \*\*\*: بیانگر  $P < 0/001$  می‌باشد). B: توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه.



شکل ۲. نتایج تکنیک ELISA. مقایسه‌ی میزان پروتئین NT3 و NT4 در گروه‌های تیمار با گروه‌های شاهد و شام (\*: بیانگر  $P < 0.05$  می‌باشد).

از طرفی وجود PFOA در بدن باعث افزایش گونه‌های مختلف اکسیژن فعال نظیر هیدروژن پراکسید و مالون دی‌آلدهید می‌شود. بنابراین فعالیت استرس اکسیداتیو PFOA می‌تواند باعث کاهش میزان Bcl2 و افزایش P53 و BAX شود که به دنبال آن آپوپتوز اتفاق می‌افتد. سایر مطالعات نشان داده‌اند که NT-3 و NT4 نقش بسیار مهمی در بقاء و تمایز نورونی در طی دوره‌ی تکاملی بر عهده دارند و می‌توانند از طریق فعال سازی مسیر PI3-kinase/Akt باعث سرکوب آپاتوز نورونی شوند. اتصال NT-3 و NT4 به گیرنده‌های Trk باعث ایجاد الیگومریزاسیون و ترانس اتوفسفوریلاسیون قسمت تیروزین داخل سلولی می‌شود. این رویداد متعاقباً منجر به شروع سیگنال‌های داخل سلول از طریق تحریک مسیر MAPK شده که در نهایت منجر به بیان Bcl-2 می‌شود که این مهم باعث بقا و تکثیر سلولی می‌شود. در مجموع افزایش میزان بیان NT-3 و NT4 می‌تواند به صورت نوعی مکانیسم جبرانی اثرات مخرب PFOA بر فرایند نوروزن و تکامل مغزی را کاهش دهد.

### نتیجه‌گیری

افزایش بیان ژن و پروتئین NT3 و NT4 در مغز جنین، نوعی مکانیسم محافظت نورونی در برابر اثرات مخرب PFOA می‌باشد. این نوروتروفین‌ها احتمالاً با سرکوب اثرات اکسیداتیو و آپاتوزی PFOA از طریق فعال سازی مسیر PI3-kinase/Akt و همچنین تحریک مسیر MAPK می‌تواند باعث حفظ بقاء نورونی و سلامت فرایند تکامل مغزی شوند.

### تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی مقطع دکترای تخصصی رشته علوم تشریحی به شماره‌ی ۳۴۰۳۷۹ می‌باشد که در دانشگاه علوم پزشکی

فعال یا غیرفعال از سد جفت عبور کنند (۱۴). عبور جفتی PFAS به طول کرین، گروه عملکردی (مانند گروه سولفونات)، ایزومرهای خطی یا شاخه‌ای و میل اتصال آن‌ها به پروتئین‌های خون مانند پروتئین اتصال دهنده اسید چرب بستگی دارد (۱۵). اثرات بالقوه قرار گرفتن در معرض PFOA بر رشد عصبی انسان توجه بیشتری را به خود جلب کرده است.

مطالعات اپیدمیولوژیک قبلی نشان داده است که قرار گرفتن در معرض PFOA ممکن است بر عملکرد عصبی - شناختی تأثیر بگذارد. قرار گرفتن در معرض PFOA قبل از تولد با حوزه رشد حرکتی در ۲ سالگی، توانایی‌های حرکتی بینایی دوران کودکی، نمرات آزمون هوش در کودکان ۵ و ۸ ساله همراه می‌باشد. همچنین مشخص شده است که قرار گرفتن در معرض PFAS با تکانشگری و اختلال بیش فعالی کمبود توجه در کودکان سن مدرسه (۱۶) همراه می‌باشد. بنابراین در مطالعه حاضر بررسی اثرات سوء احتمالی PFOA بر روی فاکتورهای NT3 و NT4 که از فاکتورهای مهم و مؤثر بر رشد و تکامل مغز می‌باشند، مورد بررسی قرار گرفت.

همانطوری که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، در گروه‌هایی که در معرض PFOA بوده‌اند بیان ژن‌های NT3 و NT4 نسبت به گروه‌های شاهد و شام به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرده است. علاوه بر این بیان پروتئین‌های NT3 و NT4 هم افزایش داشته است و در راستای افزایش بیان ژن‌های مربوطه می‌باشد. بدلیل اثرات محافظت‌کنندگی نورونی مربوط به نوروتروفین‌ها، احتمالاً سطوح مغزی این عوامل در شرایط خاصی مانند مواجهه با عوامل سمی تغییر خواهد کرد. تحقیقات قبلی نشان داده است که قرار گرفتن در معرض PFOA باعث بروز تغییراتی در ساختار DNA می‌شود و می‌تواند بیان ژن‌ها را تحت تأثیر قرار دهد (۱۷). لذا عبور PFOA از جفت و ورود آن به بدن جنین با تغییراتی در بیان ژن‌ها همراه خواهد بود.

اصفهان تصویب و با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه به انجام رسیده است. بدین وسیله از زحمات معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تقدیر و تشکر می‌شود.

## References

- Li D, Zhang L, Zhang Y, Guan S, Gong X, Wang X. Maternal exposure to perfluorooctanoic acid (PFOA) causes liver toxicity through PPAR- $\alpha$  pathway and lowered histone acetylation in female offspring mice. *Environ Sci Pollut Res Int* 2019; 26(18): 18866-75.
- Neisiani AK, Mousavi MK, Soltani M, Aliomrani M. Perfluorooctanoic acid exposure and its neurodegenerative consequences in C57BL/6J mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2023; 396(10): 2357-67.
- Fragki S, Dirven H, Fletcher T, Grasl-Kraupp B, Bjerve Gützkow K, Hoogenboom R, et al. Systemic PFOS and PFOA exposure and disturbed lipid homeostasis in humans: what do we know and what not?. *Crit Rev Toxicol* 2021; 51(2): 141-64.
- Kerger BD, Copeland TL, DeCaprio AP. Tenuous dose-response correlations for common disease states: case study of cholesterol and perfluorooctanoate/sulfonate (PFOA/PFOS) in the C8 Health Project. *Drug Chem Toxicol* 2011; 34(4): 396-404.
- Steenland K, Tinker S, Frisbee S, Ducatman A, Vaccarino V. Association of perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate with serum lipids among adults living near a chemical plant. *Am J Epidemiol* 2009; 170(10): 1268-78.
- Johansson N, Fredriksson A, Eriksson P. Neonatal exposure to perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) causes neurobehavioural defects in adult mice. *Neurotoxicology* 2008; 29(1): 160-9.
- Wang Y, Mandelkew E. Tau in physiology and pathology. *Nat Rev Neurosci* 2016; 17(1): 5-21.
- Shafiei SS, Guerrero-Muñoz MJ, Castillo-Carranza DL. Tau oligomers: cytotoxicity, propagation, and mitochondrial damage. *Front Aging Neurosci* 2017; 9: 83.
- Jiang Z, Hu Z, Zeng L, Lu W, Zhang H, Li T, et al. The role of the Golgi apparatus in oxidative stress: is this organelle less significant than mitochondria? *Free Radic Biol Med* 2011; 50(8): 907-17.
- Chen Y, Zhou L, Xu J, Zhang L, Li M, Xie X, et al. Maternal exposure to perfluorooctanoic acid inhibits luteal function via oxidative stress and apoptosis in pregnant mice. *Reprod Toxicol* 2017; 69: 159-66.
- de Miranda AS, de Barros JLVM, Teixeira AL. Is neurotrophin-3 (NT-3): a potential therapeutic target for depression and anxiety?. *Expert Opin Ther Targets* 2020; 24(12): 1225-38.
- Bothwell MN. NGF, BDNF, NT3, and NT4. *Handb Exp Pharmacol* 2014: 220: 3-15.
- Ghosouri S, Soleimani M, Bakhtiari M, Ghasemi N. Evaluation of in vivo lithium chloride effects as a GSK3- $\beta$  inhibitor on human adipose derived stem cells differentiation into oligodendrocytes and remyelination in an animal model of multiple sclerosis. *Mol Biol Rep* 2023; 50(2): 1617-25.
- Gao K, Zhuang T, Liu X, Fu J, Zhang J, Fu J, et al. Prenatal exposure to per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) and association between the placental transfer efficiencies and dissociation constant of serum proteins-PFAS complexes. *Environ Sci Technol* 2019; 53(11): 6529-38.
- Kim S, Choi K, Ji K, Seo J, Kho Y, Park J, et al. Trans-placental transfer of thirteen perfluorinated compounds and relations with fetal thyroid hormones. *Environ Sci Technol* 2011; 45(17): 7465-72.
- Lien GW, Huang CC, Shiu JS, Chen MH, Hsieh WS, Guo YL, et al. Perfluoroalkyl substances in cord blood and attention deficit/hyperactivity disorder symptoms in seven-year-old children. *Chemosphere* 2016; 156: 118-27.
- Geiger SD, Yao P, Vaughn MG, Qian Z. PFAS exposure and overweight/obesity among children in a nationally representative sample. *Chemosphere* 2021; 268: 128852.

## Investigating the Effects of Exposure to PFOA During Pregnancy on the Expression of Neurotrophin 3 (NT3) and Neurotrophin 4 (NT4) Factors in the Brain of Newborn Rats

Satar Doghi<sup>1</sup>, Zeinolabedin Sharifian Dastjerdi<sup>2</sup>, Nazem Ghasemi<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Previous studies have shown perfluorooctanoic acid (PFOA) causes organ cytotoxicity. There are high levels of PFOA in cord blood that may affect organogenesis. In the present study, the effects of exposure to perfluorooctanoic acid (PFOA) during pregnancy were investigated on the expression of neurotrophin 3 (NT3) and neurotrophin 4 (NT4) factors in the rat brain.

**Methods:** In this study, the newborns brains of 35 pregnant Wistar rats were used. Wistar rats were randomly divided into five groups, including control groups, sham groups, and three groups receiving PFOA at the rate of 1, 5, and 10 mg per kilogram of body weight, were used. In the group receiving PFOA, this compound was given daily using the gavage technique. Using ELISA and Real-Time PCR methods, we investigated the expression of NT3 and NT4 factors in the brain of newborn mice 20 days after birth.

**Findings:** The results showed that the average expression of NT3 and NT4 genes and proteins in the PFOA receiving groups, especially in the 5 and 10 mg PFOA groups, significantly increased compared to other groups ( $P \leq 0.001$ ).

**Conclusion:** The results of the present study showed that exposure to PFOA during pregnancy can lead to increased expression of NT3 and NT4 factors. Increasing these factors by suppressing the oxidant and apoptotic effects of PFOA can prevent PFOA-induced neurological disorders.

**Keywords:** Perfluorooctanoic acid; Neurotrophin 3; Neurotrophin 4; Brain; Pregnancy

**Citation:** Doghi S, Sharifian Dastjerdi Z, Ghasemi N. Investigating the Effects of Exposure to PFOA During Pregnancy on the Expression of Neurotrophin 3 (NT3) and Neurotrophin 4 (NT4) Factors in the Brain of Newborn Rats. J Isfahan Med Sch 2024; 42(775): 599-604.

1- MSc Student, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran  
2. Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran  
3. Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Nazem Ghasemi, Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: n\_ghasemi@med.mui.ac.ir