BRIEF REPORT

The Effect of Minocycline on Cerebellar Purkinje Neurons in Epileptic Rats

Rahim Golmohammadi[1],
Mehdi Behashti[2]

[1] Associate Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran
[2] Instructor, Cellular and Molecular Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

(Received March 7, 2018 ; Accepted June 25, 2018)

Abstract

Background and purpose: Minocycline is an antibiotic which has anti-inflammatory and anti-seizure properties. There is no reliable evidence on the effect of Minocycline on histological structures of cerebellar Purkinje neurons. This study aimed at elucidating this effect in epileptic rats.

Materials and methods: This experimental study was conducted in 24 rats which were randomly divided into three different groups (n=8 per group). In groups I and II epilepsy was induced by pentylenetetrazole at 40mg/Kg. Group I was administrated minocycline at 25 mg/Kg whereas group II was given normal saline at 25 mg/Kg for two weeks. Group III was the control that received only normal saline. The rats were all deeply anesthetized and cerebellectomized. All removed cerebella were stained by APAF-1 (Apoptotic Peptidase Activating Factor -1), then safe normal Purkinje neurons were counted. Data analysis was done applying Dunnett test.

Results: Significant difference was seen in mean number of normal neurons between groups I and II and the control group ($p<0.001$). Compared with group II, we observed a significant increase in mean number of normal Purkinje neurons in group I ($p<0.01$).

Conclusion: Treatment with minocycline was found to have protective effect on Purkinje neurons in the cerebellum of epileptic rats.

Keywords: Purkinje neurons, cerebellum, minocycline, pentylenetetrazole, rats, epilepsy

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 28 (168): 177-184 (Persian).

* **Corresponding Author: Rahim Golmohammadi -** Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran (E-mail: rahimgolmohammadi@yahoo.com)

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هشتم شماره ۱۶۸ دی سال ۱۳۹۷ (۱۸۱۴-۱۷۷)

بررسی اثر ماینوسیکلین بر روی نورون های پورکنژ مخچه موش صحرایی نر صرعی شده

رحیم گل محمدی[1]
سید مهدی بهشتی[2]

چکیده

سابقه و هدف: ماینوسیکلین آنتی‌بیوتیکی است که نقش ضد التهابی و ضدتشنجی دارد. در مورد اثر ماینوسیکلین بر روی نورون‌های پورکنژ هیچ گزارشی مشاهده نشده است. هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر ماینوسیکلین بر روی ساختار نورون های پورکنژ مخچه موش صحرایی صرعی شده می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش صحرایی به صورت تصادفی به سه گروه ۸ تایی تقسیم شدند. موش‌های گروه ۱ و ۲ توسط پنتیلن تترازول (PTZ) ۴۰ mg/kg صرعی شدند. در گروه اول تجربی صرعی شده، ماینوسیکلین (۲۵ mg/kg) به مدت دو هفته تزریق شد، گروه دوم تجربی صرعی شده به جای ماینوسیکلین، سرم فیزیولوژیک (۲۵ mg/kg) دریافت کردند. گروه سوم، گروه کنترل (صرعی نشده) بود که فقط سرم فیزیولوژیک می‌گرفتند. موش‌ها پس از دوره ی درمان به طور عمیق بی‌هوش شدند، مخچه آن‌ها خارج شد و با روش متداول و اختصاصی با استفاده از APAF-1(Apoptotic Peptidase Activating Factor -1 رنگ‌آمیزی شدند. نورون‌های سالم با استفاده از تست Dunnet تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: کاهش معنی داری در میانگین تعداد نورون های سالم پورکنژ بین دو گروه صرعی شده (صرعی+ ماینوسیکلین و صرعی + سرم فیزیولوژیک) نسبت به گروه کنترل (صرعی نشده) مشاهده شد ($p<0/001$). هم‌چنین افزایش معنی‌داری در میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ قشر مخچه در گروه آزمایشی صرعی شده که ماینوسیکلین ۲۵ mg/kg دریافت می‌کردند نسبت به گروه صرعی شده که سرم فیزیولوژیک (۲۵ mg/kg) می‌گرفتند، دیده شد ($p<0/01$).

استنتاج: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ماینوسیکلین نقش محافظتی بر روی نورون های پورکنژ قشر مخچه موش‌های صحرایی صرعی شده دارد.

واژه های کلیدی: پورکنژ، مخچه، ماینوسیکلین، پنتیلن تترازول، موش صحرایی، صرع

مقدمه

مخچه بخشی از مغز خلفی است که در حفظ تونسیته عضلانی بدن، تعادل، کنترل هیجانات و انجام کارهای ظریف و دقیق بدن نقش مهمی دارد(۱). سلول‌های پورکنژ قشر مخچه، بزرگ ترین نورون‌های

مولف مسئول: رحیم گل محمدی- سبزوار: مجتمع پردیس دانشگاه، دانشکده پزشکی E-mail: rahimgolmohammadi@yahoo.com
۱. دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
۲. مربی، مرکز تحقیقات سلولی ومولکولی ، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۶/۱۲/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۷/۱/۲۷ تاریخ تصویب : ۱۳۹۷/۴/۴

قشر مخچه هستند که در بین لایه گرانولار در داخل و لایه مولکولار در خارج قرار گرفته‌اند و از نوروترانسمیتر گابا که نقش مهاری دارند، استفاده می‌کنند. رشته‌های عصبی (Axon) نورون‌های پورکنژ، بخشی از راه خروجی مخچه را تشکیل می دهند که در تنظیم اعمال مهم حرکتی نقش اصلی را دارند(۲). از طرفی صرع یکی از بیماری سیستم عصبی مرکزی است که درمان قطعی آن هنوز مشخص نیست. هرچند که داروهای ضد تشنج تا حدودی تشنجات ناشی از صرع را کنترل می‌کنند و در مواردی این داروها در کنترل درمان و پیشگیری از تشنجات صرع لوب تمپورال ناموفق هستند(۳). برای ایجاد صرع در حیوانات آزمایشگاهی، روش‌های مختلف شیمیایی، الکتریکی، هیپوکسی و ایسکمی وجود دارد(۴)، ولی مدل متداول برای ایجاد کیندلینگ یا همان صرع تجربی (Epilepsy)، روش شیمیایی است که توسط پنتیلن تترازول (PTZ) در حیوانات آزمایشگاهی قابل انجام می‌باشد(۵). بیماری صرع یکی از مشکلات نورولوژیک در جهان می‌باشد، به‌طوری‌که از هر ۱۰۰۰ نفر، ۶/۳۸ مورد به صرع مبتلا می شوند، به طوری که میزان شیوع صرع حدود ۰/۵ تا یک درصد از جمعیت دنیا را به خود اختصاص می‌دهد. در ایجاد صرع، فاکتورهای مختلفی از جمله استعداد خانوادگی، عفونت‌ها و عوامل توکسیک و متابولیکی نقش دارند(۶). در مورد اثرات داروها در ایجاد صرع، گزارش‌های متفاوتی مشاهده شده است، بعضی گزارش‌ها نشان می‌دهند که آزاد شدن بیش از حد سایتوکین‌های التهابی بر روی نورون‌های عصبی، اثرات توکسیک دارند و می‌توانند منجر به القاء تشنج شوند(۵). ماینوسیکلین آنتی‌بیوتیکی از دسته تتراسایکلین‌ها است که نقش ضد میکروبی و ضد التهابی دارد و به راحتی از سد خونی- مغزی (Blood brain barrier) عبور می‌کند(۷). داروی ماینوسیکلین می‌تواند اثرات سایتوکین‌های التهابی را کاهش دهد و در کاهش شدت تشنج‌های صرعی مفید و موثر باشد، به‌طوری که تجویز ماینوسیکلین در نورون‌های تالاموس بعد از آسیب، نقش محافظتی مشاهده شده است(۸). تزریق سیستمیک ماینوسیکلین موجب کاهش فعالیت میکروگلیا و سایتوکین‌های التهابی درسیستم عصبی مرکزی می‌شود(۹،۱۰). گزارش‌های دیگر نشان می‌دهد که داروی ماینوسیکلین اثر ضد تشنجی دارد و این اثر مهاری را احتمالاً با توجه به اثرات تحریکی فعال‌شدن گیرنده‌های گلوتامات و فعال شدن گیرنده‌های گابا، موجب می‌شود؛ بدین‌ترتیب ماینوسیکلین زیر واحد γ_2 گیرنده $GABA_A$ را افزایش و زیر واحد NR2A را کاهش می‌دهد(۱۲،۱۱). هم‌چنین گزارش شده است که ماینوسایکلین اثر محافظتی در برابر کتامین که به عنوان یک داروی بیهوشی در مراکز درمانی استفاده می‌شود، دارد(۱۳). گزارش دیگری نشان می‌دهد که ماینوسایکلین بعد از ایسکمی نخاعی (global cerebral ischemia) در موش‌های صحرایی، به طور موضعی و عمومی، نقش محافظتی داشته است(۱۴). مطالعه Barker و همکارانش نشان می‌دهد که ماینوسیکلین در بهبودی صرع لوب تمپورال تجربی ایجاد شده نقش دارد(۱۵).

یکی از روش‌های مطالعه بافت عصبی، استفاده از روش هیستولوژی و ایمونوهیستوشیمی می‌باشد؛ ایمونوهیستوشیمی یک روش اختصاصی است که بر پایه آنتی‌ژن و آنتی‌بادی انجام می‌گیرد. این روش اختصاصی می‌تواند در فرآیند تشخیص نورون های طبیعی از نورون‌های آسیب دیده استفاده شد. یکی از نشانگرهایی که در بافت عصبی استفاده می شود، مارکر APAF-1(Apoptotic Peptidase Activating Factor-1) است که به عنوان یک نشانگر برای تعیین نورون‌های ضایعه دیده از سالم می‌تواند کمک‌کننده باشد(۱۶). از آن‌جائی که در مورد اثر ماینوسیکلین بر روی نورون‌های پورکنژ موش‌های صحرایی صرعی شده با پنتیلن تترازول گزارشی مشاهده نشده است، لذا این مطالعه با هدف تاثیر ماینوسیکلین بر روی نورون‌های پورکنژ مخچه موش‌های صحرایی- صرعی شده با پنتیلن تترازول انجام شد.

مواد و روش ها

الف)- صرعی شدن موش‌های صحرایی و بافت شناسی عمومی

در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش صحرایی نر پس از عادت در محیط جدید، به صورت تصادفی به سه گروه ۸ تایی تقسیم شدند (n=8) که شامل: گروه ۱- گروه تجربی صرعی شده دریافت کننده ماینوسیکلین (شرکت سیگما، آلمان)، ۲- گروه صرعی شده دریافت کننده سرم فیزیولوژیک و ۳- گروه کنترل (سالم) بود. برای صرعی کردن موش های صحرایی، پنتیلن تترازول (PTZ) ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوم گرم وزن بدن، به میزان ۱۲ دوز به صورت روز در میان در موش‌های صحرایی (گروه آزمایشی ۱ و ۲) به صورت داخل صفاقی تزریق شد تا حیوان علائم صرعی شدن را به طور کامل نشان دهد(۱۷). در این مرحله، حیوان صرعی شده قادر نیست روی دو پا بایستد و تعادل خود را از دست می‌دهد و به زمین می‌افتد(۱۸). گروه اول آزمایشی، موش‌های صحرایی نر صرعی شده توسط ۲۵ mg/kg ماینوسیکلین به صورت داخل صفاقی به میزان ۱۲ دوز بودند(۱۹،۲۰). در گروه دوم آزمایشی، موش‌های صحرایی نر صرعی شده به جای ماینوسیکلین، سرم فیزیولوژیک به میزان ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه سوم، موش‌های صحرایی نر سالم (صرعی نشده) بودند که سرم فیزیولوژیک به صورت داخل صفاقی دریافت‌کردند. پس از پایان دوره درمان، موش‌های صحرایی نر توسط تزریق داروی بیهوشی کتامین و رامپون (۱۰۰ mg/kg، داخل صفاقی) به طور عمیق بیهوش شدند. پس از برداشتن جمجمه، مخچه حیوان با احتیاط برداشته شد و در داخل فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. بعد از پاساژ بافتی (Tissue processing)، قالب‌گیری در پارافین و مقطع‌گیری ۵ میکرونی به صورت کرونال و سریال انجام شد، مقاطع به صورت تصادفی انتخاب شدند. اسلایدها با هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری Motic و نرم‌افزار Advanced motic plus2 با بزرگنمایی ۴۰۰، ۴۰ میدان دید میکروسکوپی یعنی ۱۰ اسلاید از هر گروه و چهار میدان از هر اسلاید به صورت تصادفی سیستماتیک انتخاب شد و تصویر گرفته شد(۲۱). سپس شمارش نورون‌های سالم پورکنژ از مقاطع تهیه شده از قشر مخچه گروه‌های مورد مطالعه (تجربی ۱ و ۲ و گروه کنترل صرعی نشده ۳) توسط دو نفر به صورت مجزا از یکدیگر (دو سوکور) به ابعاد $8\times8\ mm^2$ شمارش و ثبت شد(۲۲). داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) و فرمول‌های آماری واریانس یک طرفه با استفاده از تست Dunnet تجزیه و تحلیل شدند.

ب) ایمونوهیستوشیمی: پس از مقطع گیری ۵ میکرونی از ناحیه قشر مخچه با میکروتوم، بر روی اسلایدها رنگ‌آمیزی اختصاصی با استفاده از APAF-1 (Apoptotic Peptidase Activating Factor-1) انجام شد. مراحل انجام کار رنگ آمیزی اختصاصی ایمونوهیستوشیمی به طور خلاصه عبارت است دما و غلظت‌های آنتی‌بادی بر طبق دستور کیت انجام گرفت. برای ماسک‌زدایی، محل شاخص‌های آنتی‌ژنیک نمونه‌ها از میکروویو و بافر سیترات با درجه حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد. برای مهار فعالیت اندوژناز پراکسیداز به مدت ۳۰ دقیقه در محلول ۳ درصد آب اکسیژنه قرار داده شد و مجدداً ۳ بار با بافر فسفات سالین، لام‌ها شستشو داده شد. آنتی‌بادی اولیه (Primary Specific rabbit monoclonal APAF-1 antibody(Novocastra-Germany)) پس از رقیق شدن به نسبت ۱:۵۰ روی لام‌ها چکانده شد و سه بار با بافر فسفات سالین (PBS) شستشو داده شد، سپس از آنتی‌بادی ثانویه استفاده شد(۲۳). از اسلایدها با میکروسکوپ نوری 2 Advanced motic plus تصویر گرفته شد. اسلایدها توسط دو نفر به طور جداگانه بررسی شدند(۲۱، ۲۳).

یافته ها و بحث

الف)- یافته‌های کمی نورون های پورکنژ

کاهش معنی‌داری در میانگین تعداد نورون‌های

سالم پورکنژ قشر مخچه در گروه تجربی ۱ و ۲ یعنی دو گروه صرعی شده (صرعی + مایینوسیکلین و صرعی+ سرم فیزیولوژیک) نسبت به گروه سوم کنترل (صرعی نشده) مشاهده شد، به طوری که این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار بود($p< ۰/۰۰۱$). افزایش میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ قشر مخچه در گروه تجربی صرعی شده که مایینوسیکلین ۲۵ mg/kg دریافت می‌کردند، نسبت به گروه صرعی شده که به جای مایینوسیکلین، سرم فیزیولوژیک دریافت می کردند (۲۵ mg/kg) دیده شد. این تغییرات از نظر آنالیز واریانس یک طرفه، معنی دار بود ($p< ۰/۰۱$) (جدول شماره ۱).

ب) یافته‌های بافتی نورون‌های پورکنژ

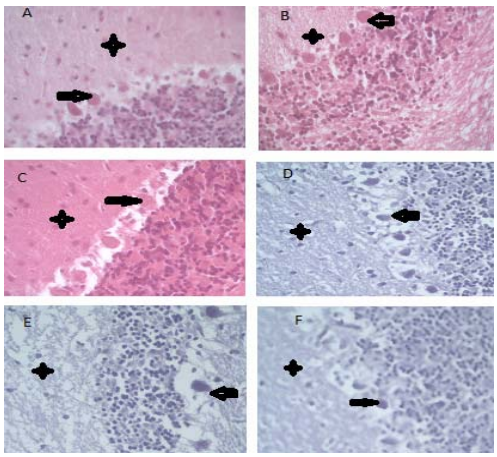
تغییرات مورفولوژیک نورون‌های پورکنژ مانند مشخص نبودن محدوده‌ی هسته از سیتوپلاسم و متراکم شدن هسته و شکل غیر طبیعی نورون‌های پورکنژ و هم‌چنین اسیدوفیلی سیتوپلاسم در موش‌های صحرایی نر گروه‌های صرعی شده (صرعی+ مایینوسیکلین و صرعی + سرم فیزیولوژیک) نسبت به گروه صرعی نشده (کنترل) در مقاطع تهیه شده از قشر مخچه در نورون‌های پورکنژ مشاهده شد (تصویر شماره ۱).

در مطالعه حاضر، کاهش معنی داری در میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ قشر مخچه در دو گروه صرعی‌شده نسبت به گروه صرعی‌نشده مشاهده شد. مطالعه Lu و همکارانش نشان می‌دهد که مایینوسیکلین برای نورون‌ها و سلول‌های بنیادی آن‌ها (Neural Stem Cell)، اثر محافظتی در برابر کتامین که به عنوان یک داروی بیهوشی استفاده می‌شود، دارد(۱۳). نتایج این مطالعه با تحقیق فوق همخوانی دارد، هرچند نوع مطالعه با پژوهش فوق تفاوت دارد، زیرا در مطالعه حاضر، اثر مایینوسیکلین بر روی نورون‌های پورکنژ مخچه موش‌های صحرایی نر صرعی شده انجام شده است، در حالی که در مطالعه Lu و همکارانش، اثر مایینوسیکلین بر روی سلول‌های بنیادی عصبی موش‌های صحرایی صرعی نشده تحت تاثیر کتامین

جدول شماره ۱: میانگین و خطای استاندارد در نورون های سالم سلول های پورکنژ قشر مخچه در گروه های تجربی ۱ و ۲ با گروه کنترل ۳ در موش های صحرایی نر صرعی شده و سالم

میانگین و خطای استاندارد / گروه	حد بالا	حد پائین	انحراف معیار ± میانگین	سطح معنی داری
گروه تجربی ۱ (صرعی شده +مایینوسیکلین)	۳/۶۰۶۸	۲/۹۴۳۲	۳/۲۷۵۰±۰/۱۶۴۰۳	
گروه تجربی ۲ (صرعی شده +سرم فیزیولوژیک)	۲/۴۹۸۰	۱/۸۵۲۰	۲/۱۷۵۰±۰/۱۵۹۶۸	
گروه کنترل ۳ (صرعی‌نشده +سرم فیزیولوژیک)*	۵/۰۰۷۰	۳/۹۹۳۰	۴/۵۰۰۰±۰/۲۵۰۶۴	۰/۰۰۱

* کاهش معنی‌داری در میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ قشر مخچه درگروه‌های تجربی ۱ و ۲ صرعی شده (صرعی+ مایینوسیکلین و صرعی+ سرم فیزیولوژیک) نسبت به گروه ۳ کنترل (صرعی نشده) مشاهده شد ($p<۰/۰۰۱$). تست Dunnet.



تصویر شماره ۱: مقطع ۵ میکرونی کرونال از قشر مخچه موش‌های صحرایی نر صرعی شده با پنتیلن تترازول. شکل A- مربوط به گروهی از موش‌های صحرایی صرعی نشده است که سرم فیزیولوژیک دریافت می‌کردند. پیکان، سلول های پورکنژ مخچه را نشان می‌دهد. شکل B- مربوط به موش‌های صحرایی صرعی شده است‌که مایینوسیکلین (۲۵ mg/kg) دریافت کرده‌اند. پیکان، سلول پورکنژ مخچه را نشان می دهد. شکل C- مربوط به گروهی از موش های صحرایی صرعی شده است که سرم فیزیولوژیک دریافت کردند. پیکان، سلول پورکنژ با اسیدوفیلی بالای سیتوپلا سم را نشان می دهد. شکل D- نورون‌های پورکنژ موش‌های صحرایی نر گروه صرعی نشده که سرم فیزیولوژیک دریافت می‌کردند، را نشان می دهد. شکل E- مربوط به گروهی ازموش‌های صحرایی است‌که مایینوسیکلین (۲۵ mg/kg) دریافت می‌کردند. شکل E- مربوط به موش‌های صحرایی صرعی شده است که سرم فیزیولوژیک دریافت می‌کردند. پیکان، نورون های پورکنژ را نشان می دهد، محدوده هسته از سیتوپلاسم مشخص نیست. علامت ستاره، لایه گرانولار مخچه را نشان می‌دهد (تصاویر D، E و F- با روش اختصاصی APAF-1 (Apoptotic Peptidase Activating Factor-1) رنگ‌آمیزی شده‌اند. (بزرگنمائی ۴۰۰).

انجام شده است. گزارش‌های دیگر نیز نشان می‌دهند که ماینوسیکلین اثر محافظتی خود را بر روی سلول‌های عصبی از طریق بهبود عملکرد سلول‌های میکروگلیا، متعاقب حمله ایسکمی تجربی بر روی سلول‌های بنیادی عصبی به انجام می‌رساند(۲۴). گزارشات دیگر نشان می‌دهد که عصاره شوید و ویتامین C، نقش محافظتی بر روی ساختار بافتی نورون‌های پورکنژ مخچه و نورون‌های هیپوکامپ مغزی دارند(۱۸،۱۷).

در مطالعه حاضر، میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ در گروه‌های تجربی یک و دو صرعی شده، کم‌تر از گروه صرعی نشده (سالم) بود، به طوری که این ارتباط از نظر آماری معنی‌دار بود. این نتیجه می‌تواند بیان کننده این واقعیت باشد که نورون‌های پورکنژ مخچه موش‌های صحرایی تحت تاثیر کیندلینگ تجربی (صرع) ناشی از پنتیلن تترازول (PTZ) قرار می‌گیرند و احتمالاً آسیب می‌بینند. بعضی گزارش‌های دیگر نشان می‌دهد که تزریق PTZ در موش‌های سوری که به منظور کیندل شدن (صرعی شدن) استفاده می‌شود، موجب از بین رفتن حافظه در موش‌ها شده است(۲۵). بیماری‌های مختلفی از جمله آلزایمر، مالتیپل اسکلروز و صرع می‌توانند ناشی از آسیب نورونی (neurodegenerative) به وجود آیند، به عبارتی دیگر می‌توان گفت که آسیب نورونی در بافت سیستم عصبی مرکزی (Central Nerve System)، بیماری‌های فوق را موجب می‌شوند(۲۶).

در مطالعه حاضر، در گروه تجربی صرعی شده که ماینوسیکلین دریافت می‌کردند نسبت به گروه آزمایشی صرعی شده که سرم فیزیولوژیک می‌گرفتند، میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ بیش‌تر بود که می‌تواند مربوط به اثر محافظتی تاثیر ماینوسیکلین بر روی نورون پورکنژ مخچه موش‌های صحرایی نر صرعی‌شده توسط PTZ باشد. پیشنهاد می‌شود بررسی بیش‌تری در زمینه تاثیر ماینوسیکلین درحیوانات صرعی شده که در فرآیند مرگ فیزیولوژی (Program cell death) و یا افزایش طول بقاء مشارکت دارند(۲۸،۲۷)، در حیوانات صرعی شده با PTZ انجام شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ماینوسیکلین می‌تواند نقش محافظتی بر روی نورون‌های پورکنژ قشر مخچه موش‌های صحرایی صرعی شده که توسط داروی پنتیلن تترازول (PTZ) ایجاد می‌شود، داشته باشد.

سپاسگزاری

با تقدیر و تشکر از شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار به خاطر تصویب و تامین هزینه‌های طرح، هم چنین آقای دکتر حسن رخشانی دکترای آمار، کارشناس‌های آزمایشگاه خانم‌ها لندرانی و محمودی به خاطر انجام بخشی از کارهای بافت‌شناسی و رنگ‌آمیزی اختصاصی، تشکر می‌شود.

References

1. Timmann D, Drepper J, Frings M, Maschke M, Richter S, Gerwig M, Kolb FP. The human cerebellum contributes to motor, emotional and cognitive associative learning. A review. Cortex 2010; 46(7): 845-857.
2. Ito M. Historical review of the significance of the cerebellum and the role of Purkinje cells in motor learning.Ann N Y Acad Sci 2002; 978: 273-288.
3. Hsu WW, Sing CW, He Y, Worsley AJ, Wong IC, Chan EW.Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of perampanel in the treatment of partial-onset epilepsy.CNS Drugs 2013; 27(10): 817-827.
4. Nirwan N, Vyas P, Vohora D. Animal models of status epilepticus and temporal lobe epilepsy: a narrative review. Arch Clin Neuropsychol 2018; 33(3): 354-364.
5. Allan SM, Rothwell NJ. Cytokines and acute neurodegeneration. Nat Rev Neurosci 2001; 2(10): 734-744.

6. Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, Patten SB, Kwon CS, Dykeman J, et al. Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies. Neurology 2017; 88(3): 296-303.
7. Nagel S, Su Y, Horstmann S, Heiland S, Gardner H, Koziol J, et al. Minocycline and hypothermia for reperfusion injury after focal cerebral ischemia in the rat: effects on BBB breakdown and MMP expression in the acute and subacute phase. Brain Res 2008; 1188: 198-206.
8. Simon DW, Aneja RK, Alexander H, Bell MJ, Bayir H, Kochanek PM, et a.. Minocycline Attenuates High Mobility Group Box 1 Translocation, Microglial Activation, and Thalamic Neurodegeneration after Traumatic Brain Injury in Postnatal Day 17 Rats. J Neurotrauma 2017; 35(1): 130-138.
9. Vay SU, Blaschke S, Klein R, Fink GR, Schroeter M, Rueger MA. Minocycline mitigates the gliogenic effects of proinflammatory cytokines on neural stem cells. J Neurosci Res 2016; 94(2): 149-160.
10. Liu X, Su H, Chu TH, Guo A, Wu W. Minocycline inhibited the pro-apoptotic effect of microglia on neural progenitor cells and protected their neuronal differentiation in vitro. Neurosci Lett 2013; 542: 30-36.
11. Kosarmadar N, Ghasemzadeh Z, Rezayof A. Inhibition of microglia in the basolateral amygdala enhanced morphine-induced antinociception: Possible role of GABAA receptors. Eur J Pharmacol 2015; 765: 157-163.
12. Ahmadirad N, Shojaei A, Javan M, Pourgholami MH, Mirnajafi-Zadeh. Effect of minocycline on pentylenetetrazol-induced chemical kindled seizures in mice. Neurol Sci 2014; 35(4): 571-5۷6.
13. Lu Y, Lei S, Wang N, Lu P, Li W, Zheng J, et al. Protective Effect of Minocycline Against Ketamine-Induced Injury in Neural Stem Cell: In volvement of PI3K/Akt and Gsk-3 Beta Pathway Front Mol Neuro sci 2016; 9: 135.
14. Takeda M, Kawaguchi M, Kumatoriya T, Horiuchi T, Watanabe K, Inoue S, et al. Effects of minocycline on hind-limb motor function and gray and white matter injury after spinal cord ischemia in rats Spine (Phila Pa 1976). 2011; 36(23): 1919-1924.
15. Barker-Haliski ML, Heck TD, Dahle EJ, Vanegas F, Pruess TH, Wilcox KS, et al. Acute treatment with minocycline, but not valproic acid, improves long-term behavioral outcomes in the Theiler's virus model of temporal lobe epilepsy. Epilepsia 2016; 57(12): 1958-1967.
16. Sancho M, Herrera AE, Gortat A, Carbajo RJ, Pineda-Lucena A, Orzáez M, et al. Minocycline inhibits cell death and decreases mutant Huntingtin aggregation by targeting Apaf-1. Hum Mol Genet 2011; 20(18): 3545-3553
17. Golmohammadi R, Kamalimanesh B. Protective Effect of Ascorbic Acid on Histology of Purkinje Neurons of Cerebellum in Pentylentetrazol-induced Epileptic Rats. J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(123): 45-53 (Persian).
18. Golmohammadi R, Sabaghzadeh F, Mojadadi MS. Effect of hydroalcoholic extract of Anethum graveolens leaves on the dentate gyrus of the hippocampus in the epileptic mice: a histopathological and immunohistochemical study. Res Pharm Sci 2016; 11(3): 227-232.
19. Henry CJ, Huang Y, Wynne A, Hanke M, Himler J, Bailey MT, et al. Minocycline attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced

neuroinflammation, sickness behavior, and anhedonia. J Neuroinflammation 2008; 5: 15.

20. Liu Z, Fan Y, Won SJ, Neumann M, Hu D, Zhou L, et al. Chronic treatment with inocycline preserves adult new neurons and reduces functional impairment after focal cerebral ischemia. Stroke 2007; 38(1): 146-152.
21. Golmohammadi R, Zargarian M. The Effect of Anethum Graveolens Extract on Structure and Number of Purkinje Cells of Cerebellum in Epileptic Mice. J Isfahan Med School 2015; 32(319): 2411-2420 (Persian).
22. Golmohammadi R, Pejhan A, Azhdari-Zarmehri H, Mohammad-Zadeh M. Neurol Sci. The role of ethanol on the anticonvulsant effect of valproic acid and cortical microvascular changes after epileptogenesis in mice. Neurol Sci 2013; 34(7): 1125-1131.
23. Shakeri R, Kheirollahi A, Davoodi J. Apaf-1: Regulation and function in cell death. Biochimie 2017; 135: 111-125.
24. Rueger MA, Muesken S, Walberer M, Jantzen SU, Schnakenburg K, Backes H, et al. Effects of minocycline on endogenous neural stem cells after experimental stroke. Neuroscience 2012; 215: 174-183.
25. Takechi K, Suemaru K, Kawasaki H, Araki H. Impaired memory following repeated pentylenetetrazol treatments in kindled mice. Yakugaku Zasshi 2012; 132(2): 179-182.
26. Girolamo F, Coppola C, Ribatti D. Immunoregulatory effect of mast cells influenced by microbes in neurodegenerative diseases. Brain Behav Immun 2017; 65: 68-89.
27. Golmohammadi R, Rakhshani MH, Moslem AR, Pejhan A. Prognostic Role of PTEN Gene Expression and Length of Survival of Breast Cancer Patients in the North East of Iran.Asian Pac J Cancer Prev 2016; 17(S3): 305-39.

Dastjerdi28- MN, Salahshoor MR, Mardani M, Rabbani M, Hashemibeni B, Gharagozloo M, et al. The apoptotic effects of sirtuin1 inhibitor on the MCF-7 and MRC-5 cell lines. Res Pharm Sci 2013; 8(2): 79-89.