

ORIGINAL ARTICLE

Protective Effect of Ascorbic Acid on Histology of Purkinje Neurons of Cerebellum in Pentylenetetrazol-induced Epileptic Rats

Rahim Golmohammadi¹,
Batoor Kamalimanesh²

¹Associate Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran
² BSc in Midwifery, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

(Received March 9, 2014 ; Accepted May 10, 2015)

Abstract

Background and purpose: There is a paucity of information on the effect of ascorbic acid on the Purkinje neurons of cerebellum which has a major role in balance. The aim of this study was to determine the effect of ascorbic acid on histological structure of Purkinje neurons in epileptic male rats.

Materials and methods: Fifty male rats were randomly divided into five groups ($n=10$ per group) including a control group that received only normal saline, a sham group that also received normal saline but after pentylenetetrazole-induced kindling (PTZ, 40 mg/kg). The experimental groups I, II, and III were subjected to ascorbic acid at doses of 12.5, 25 and 50 mg/kg body weight, respectively following kindling. After the treatment the rats were anesthetized and their cerebellums were dissected. Then, histological passage was done by Hematoxylin and eosin (H&E) and immunohistochemistry.

Results: A significant increase was seen in the mean number of normal neurons in group II compared with that of the other experimental groups ($P<0.001$). There was no significant difference in the mean number of normal neurons of Purkinje cells between groups I and III.

Conclusion: Our study showed protective function of ascorbic acid on Purkinje cells of epileptic rats.

Keywords: Ascorbic acid, Purkinje cells, cerebellum, pentylenetetrazole, rats

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(123): 45-53 (Persian).

بررسی اثر حفاظتی اسید اسکوربیک بر ساختار بافتی نورون های پورکنژ قشر مخچه در موش های صحرایی نر صرعی شده با پنتلین ترازوول

رحیم گل محمدی^۱

بتول کمالی منش^۲

چکیده

سابقه و هدف: در مورد اثر اسید اسکوربیک بر روی نورون های پورکنژ قشر مخچه که نقش مهمی در تعادل دارند گزارش مدونی مشاهده نشد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر اسید اسکوربیک بر ساختار بافتی سلول های پورکنژ قشر مخچه موش های صحرایی صرعی شده می باشد.

مواد و روش ها: پنجاه سر موش صحرایی نر به صرتی تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند که شامل گروه کنترل (فقط سرم فیز یولوژی)، گروه شم (صرع + سرم فیز یولوژی) پس از صرعی شدن با پنتلین ترازوول (۴۰ mg/kg) سرم فیز یولوژی در یافته می کردند. گروه آزمایشی یک (صرع ۱۲/۵ mg/kg + ۵/۱۲ mg/kg اسید اسکوربیک)، گروه آزمایشی دو (صرع ۲۵ mg/kg + ۵/۲۵ mg/kg اسید اسکوربیک) گروه آزمایشی سه (صرع ۵۰ mg/kg + ۱۲/۵ mg/kg اسید اسکوربیک) بود. موش های صحرایی پس از گذراندن دوره درمان بی هوش شدند و مخچه آنها خارج شد و پس از پاساژ بافتی اسلامیدها با هماتوکسیلین ائوزین و روش ایمونو ہیستو شیمی بررسی شدند.

یافته ها: افزایش معنی داری در میانگین تعداد نورون های سالم پورکنژ قشر مخچه موش های صحرایی صرعی شده که ۲۵ mg/kg اسید اسکوربیک می گرفتند در مقایسه با گروهی از موش های صحرایی که ۱۲/۵ mg/kg یا ۵۰ mg/kg اسید اسکوربیک دریافت می کردند مشاهده شد ($p < 0.001$)، در حالی که تغییراتی معنی داری در میانگین تعداد نورون های سالم پورکنژ قشر مخچه گروهی از موش های صحرایی صرعی شده که ۱۲/۵ mg/kg اسید اسکوربیک دریافت می کردند نسبت به گروهی که ۵۰ mg/kg اسید اسکوربیک می گرفتند دیده نشد.

استنتاج: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اسید اسکوربیک یک نقش محفوظی بر روی نورون های پورکنژ قشر مخچه موش های صحرایی نر صرعی شده دارد.

واژه های کلیدی: پورکنژ، مخچه، اسید اسکوربیک، پنتلین ترازوول، موش صحرایی

مقدمه

صرع یک بیماری عصبی است که شیوع آن در کشورهای توسعه نیافته بیشتر از کشورهای توسعه یافته و در مناطق روستایی بیشتر از مناطق شهری است. شیوع صرع به طور متوسط بین ۳/۲ تا ۵/۵ در هزار

E-mail: rahimgolmohammadi@yahoo.com

مؤلف مسئول: رحیم گل محمدی - سبزوار؛ جنب پاییز راه، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دانشکده پزشکی

۱. دانشیار، گروه علوم تربیتی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

۲. کارشناس مامایی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۱۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۴/۱/۵ تاریخ تصویب: ۱۴۰۴/۲/۲۰

داده‌اند(۱۱). اسید اسکوریک از انتهای نرون‌های گلوتامینزیک در مغز آزاد می‌شود و فعالیت دو سیستم گلوتامینزیک و دوپامینزیک را تا حدود زیادی تنظیم می‌کند. هم‌چنین دو سیستم نوروترانسمیتری مذکور میزان آزاد شدن اسید اسکوریک را تنظیم می‌کنند. در رابطه با تداخل عمل این ویتامین و سیستم‌های نوروترانسمیتری نشان داده شده است که اسید اسکوریک با غلظت کم آگونیست سیستم گلوتامینزیک و دوپامینزیک است و با غلظت زیاد اثر آنتاگونیستی دارد(۱۲). از آنجایی که این دو واسطه عصبی در انواع مختلف یادگیری و حافظه نقش دارند، اسید اسکوریک به واسطه آن‌ها بر یادگیری و حافظه اثر می‌گذارد. گزارشی در این زمینه نشان می‌دهد که مقادیر کم و متوسط اسید اسکوریک یادگیری فضایی را بهبود می‌بخشد ولی دوز بالای آن یادگیری را مختل می‌کند(۱۳). مطالعه Park و همکارانش نشان می‌دهد که کانال‌های کلسیمی سلول‌های پورکنژ مخچه نسبت به تشنج حساس می‌باشند(۱۴). گزارش Galic و همکارانش Kalume نشان می‌دهد که انقباضات شدید میوکلونیک در نوزادان صرعی شده موش موجب کاهش نورون‌های پورکنژ مخچه می‌شود(۱۵). مطالعه مدونی که نشان دهد اسید اسکوریک چه تاثیری بر روی نورون‌های پورکنژ مخچه موش‌های صحرایی صرعی شده با پنتلین ترازوول دارد، یافت نشد. لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر حفاظتی اسید اسکوریک بر روی نورون‌های پورکنژ قشر مخچه موش صحرایی صرعی شده با پنتلین ترازوول طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

(الف) حیوانات، گروه‌های تحقیق و ایجاد مدل صرع.
پنجاه سر موش صحرایی نر در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی سبزوار

کودک می‌باشد(۱). حدود یک درصد از جامعه بالغین در جهان به صرع مبتلا هستند، در حالی که ۱۰ درصد از جمعیت یک جامعه تجربه‌ای از تشنج^۱ را در دوران زندگی از خود نشان می‌دهند(۲). درمان صرع به طور کامل شناخته نشده است، هرچند که داروهای فعلی تاحدودی تشنجات ناشی از صرع را کنترل می‌کنند(۳). کنترل بیماران صرعی با داروهای شیمیایی از جمله والپریک اسید در درازمدت با عوارض همراه است(۴). از طرفی، داروهای ضد صرع مانند والپریک اسید تا حدودی تشنج را از بین می‌برند ولی در بعضی موارد فقط فراوانی وقوع تشنج ها را کاهش می‌دهند(۵). یکی از روش‌های مطالعه صرع ایجاد تشنج از طریق مدل‌های رایج کیندلینگ شیمیایی است که توسط پنتلین ترازوول (PTZ)^۲ در حیوانات آزمایشگاهی انجام می‌شود(۶). آسیب و مرگ نورونی یکی از ضایعات ایجاد شده در صرع‌زایی و مغز بیماران صرعی است(۷).

گزارش Galic و همکارانش نشان می‌دهد که تشنج و التهاب ناشی از پنتلین ترازوول می‌تواند آسیب نورونی را در پی داشته باشد(۷). از طرفی، اسید اسکوریک یک نکش ضد اکسیدانی در متابولیسم داخل سلولی دارد. در مورد اثر اسید اسکوریک بر روی فعالیت سلولی های بدن اطلاعات مختلفی گزارش شده است(۸). اسید اسکوریک نیز در مدل تشنجی حاد ناشی از پنتلین ترازوول بروز مراحل حملات تشنجی را به تأخیر اندخته است(۹). مطالعه دیگری توسط Santos و همکارانش در سال ۲۰۰۷ نشان داد که اثر آنتی اکسیدانی اسید اسکوریک با کاهش لیپید پروکسیداز و افزایش فعالیت کاتالاز در تشنجات ناشی از پیلوکارپین همراه است(۱۰). در همین راستا مشاهده شده است که در برخی از مدل‌های تشنجی مانند تشنج‌های ایجاد شده توسط پیلوکارپین، مصرف آنتی اکسیدان‌هایی مثل ملاتونین، ویتامین E و ویتامین C اثرات ضد تشنجی از خود بروز

1. Experience a seizure
2. Pentylenetetrazole

راهنما هنگام جراحی در فاصله یک میلی متر بالاتر از منطقه مورد نظر قرار گرفته و توسط سیمان دندان پزشکی ثابت شد(۱۷). موش های صحرایی پس از گذراندن دوره درمان ۴ هفته ای با کتامین (۱۰۰ mg/kg و ۱۰ mg/kg زایلزین) به صورت داخل صفاقی بی هوش شدند و پس از پروفیوژن سرم فیزیولوژی و فرمالدئید، مخچه حیوان با دقت خارج و در محلول فیکساتیو قرار داده شد.

ب) ارزیابی هیستولوژیکی پس از پاساژ بافتی مقطع گیری کرونال و سریال به صورت رندوم از مخچه با میکروتوم انجام شد. اسلامیدها با هماتوکسیلین اثوزین رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری Motic و نرم افزار ۲ Advanced motic plus با بزرگ نمایی ۴۰۰، چهل میدان دید میکروسکوپی یعنی ۱۰ لام از هر گروه و چهار میدان از هر لام به صورت تصادفی سیستماتیک انتخاب و تصویر گرفته شد. سپس نورون های سالم پورکثر توسط دو نفر به صورت مجزا از یکدیگر (دو سوکور) به ابعاد $8 \times 8 \text{ mm}^2$ شمارش و ثبت شد(۱۸).

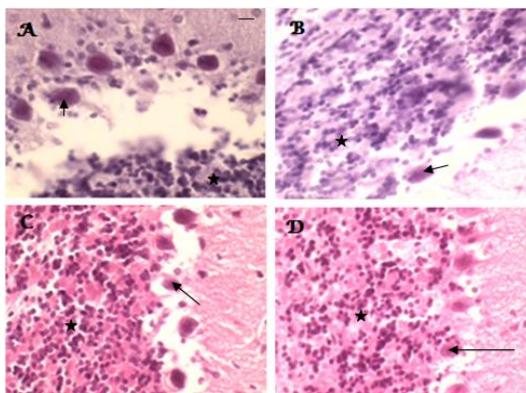
ج) ارزیابی ایمونو هیستوشیمی. پس از مقطع گیری ۵ میکرونی از ناحیه قشر مخچه با میکروتوم بر روی تعدادی از لام های با استفاده از روش معمول آویدن- بیوتین- ایمونو پر کسیداز رنگ آمیزی اختصاصی انجام شد. مراحل کار از جمله میزان استفاده از آتنی بادی به طریق زیر گرفت. بدین ترتیب که پس از پارافین زدایی نمونه ها با گزیل، ماسک زدایی محل شاخص های آتنی ژنیک با میکروپیو و بافر سیترات انجام شد. برای مهار فعلیت اندوژن پر اکسیداز به مدت ۳۰ دقیقه در محلول ۳ درصد آب اکسیزنه قرار داده شد و مجدداً با بافر فسفات سالین لام ها شست و شو شدند و سپس (rabbit anti- cleaved caspase 3 antibody) آتنی بادی Biotinylated استرپتو آویدین متصل به HRP که قادر است دی آمینو بنزیدین (DAB)¹ را اکسید کند، رنگ آمیزی هسته

تهیه و به طور تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. برای صرعی کردن موش های صحرایی پنتیلن تترازول (PTZ) با دوز ۴۰ میلی گرم به ازای یک کیلو گرم وزن حیوان به صورت داخل صفاقی هر ۴۸ ساعت یک بار به آن ها تزریق شد تا زمانی که موش ها کیندل (صرعی) شوند(۱۶). گروه های مورد مطالعه شامل موارد زیر بودند: گروه کنترل (فقط سرم فیز یولوژی)، گروه شم (صرع + سرم فیز یولوژی)، گروه آزمایشی یک (صرع + ۱۲/۵ mg/kg اسید اسکوریک)، گروه آزمایشی دو (صرع + ۲۵ mg/kg اسید اسکوریک) و گروه آزمایشی سه (صرع + ۵۰ mg/kg اسید اسکوریک)(۱۰). تزریق اسید اسکوریک نیز به صورت زیر انجام شد. موش های صحرایی پس از این که با داروی بی هوشی کتامین و زایلزین (داخل صفاقی) بی هوش شدند، در دستگاه استریو تاکس فیکس شده و پوست روی جمجمه از ناحیه بین دو چشم تا انتهای استخوان پس سری شکاف داده شد. پس از تعیین نقاط بر گما و لاندا با استفاده از اطلس پاکسینوس واتسون، مختصات AP:-0.8mm و ML:+1.6 mm از بر گما را محاسبه نموده و در محل ناحیه بطنی مشخص شده کانول راهنما به طول $\frac{3}{4} \text{ mm}$ (تهیه شده از سر سوزن ۲۱) قرار داده شد و اطراف آن توسط آکریل و منومر دندان پزشکی پر گردید تا به طور محکم و ثابت نگه داشته شود. تزریق اسید اسکوریک بعد از پنج روز ریکاوری به وسیله یک کانول تزریق ۲۷G که توسط یک رابط پلی اتیلنی به سرنگ همیلتون متصل بود انجام شد(۱۶). برای تزریق اسید اسکوریک به داخل بطن جانی از سرسوزن ۲۷ G دندان پزشکی به عنوان کانول تزریق و از سرسوزن ۲۲G به عنوان کانول راهنما استفاده گردید. پس از این که سرسوزن ۲۲G به طول مناسب بریده شد، طول سرسوزن ۲۷G به گونه ای اندازه گیری گردید که پس از قرار گرفتن در کانول راهنما (۲۲G) نوک آن به اندازه یک میلی متر از نوک کانول راهنما بلندتر باشد. به منظور قرار گیری کانول تزریق در محل مورد نظر، کانول

1. Diaminobenzidine

مربوط به گروه کنترل (Normal saline) و کم ترین میانگین مربوط به گروه شم (PTZ+ Normal saline) بود. در گروه های آزمایشی بیش ترین میانگین در تعداد سلول های سالم پورکنژ مربوط به گروه صرعی شده بود که دوز 25 mg/kg اسید اسکوربیک را دریافت می کردند (PTZ+ 25mg AA).

میانگین تعداد سلول های سالم در گروه هایی که 12.5 mg/kg و 50 mg/kg اسید اسکوربیک دریافت می کردند به ترتیب 103497 ± 24250 و 20250 ± 83166 بود که تفاوت معنی داری بین دو گروه آزمایشی فوق مشاهده نشد (نمودار شماره ۱). تغییرات مورفولوژی مانند متراکم شدن هسته و مشخص نبودن محدوده هسته از سیتوپلاسم و اسیدوفیلی زیاد سلول های پورکنژ قشر مخچه در موش های صحرایی صرعی شده که سرم فیزیولوژی دریافت می کردند نسبت به گروه هایی که اسید اسکوربیک دریافت می کردند بیش تر مشاهده شد (تصویر شماره ۱).



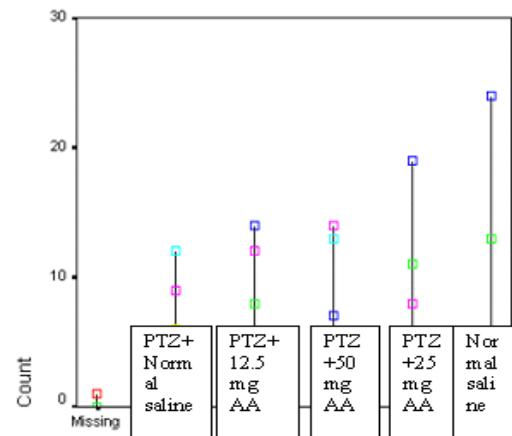
تصویر شماره ۱: مقطع ۵ میکرونی کرونال از قشر مخچه موش های صحرایی نر که پنتلین ترازوول و دوزهای متفاوتی از اسید اسکوربیک را دریافت کرده اند. در تصویر B پیکان هسته سلول های پورکنژ مخچه را در گروهی از موش های صحرایی که پنتلین ترازوول (PTZ) دریافت کرده اند نشان می دهد. تصاویر A و C به ترتیب مقطع عرضی از قشر مخچه گروهی از موش های صحرایی را که 12.5 mg/kg و 50 mg/kg اسید اسکوربیک دریافت می کردند نشان می دهد. در تصویر D پیکان بر کاهش اسیدوفیلی و متراکم شدن هسته سلول های پورکنژ در گروه هایی که 25 mg/kg اسید اسکوربیک می گرفند دلالت دارد. ستاره های لایه مولکولار را نشان می دهند [بزرگنمایی $\times 400$ ، رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوژین].

انجام گرفت و با میکروسکوپ نوری بررسی و تصویر گرفته شد (۱۸).

د) تست های آماری. داده ها با نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶/۵) با آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده از تست Dunnett برای مقایسه میانگین گروه های تجربی با شاهد و تست Duncan با ضریب آلفای 0.05 (Subset for alph= 0.05) برای مقایسه میانگین داخل گروه های تجربی مورد تعزیز و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها

الف) بررسی میانگین و هیستولوژیک سلول های پورکنژ. میانگین سلول های سالم پورکنژ در گروه شم (سرم فیزیولوژی) 17500 ± 58835 (PTZ+ ۱/۷۵۰۰) بود که در مقایسه با سایر گروه های مورد مطالعه کم ترین مقدار را نشان داد. میانگین تعداد نورون های سالم سلول های پورکنژ قشر مخچه موش های صحرایی صرعی القا شده با پنتلین ترازوول که 25 mg/kg اسید اسکوربیک دریافت می کردند 103155 ± 2500 بود که بیش ترین تعداد را در گروه های آزمایشی صرعی که اسید اسکوربیک در یافت می کردند نشان داد. این تغییرات از نظر آماری با گروه های دیگر آزمایشی (PTZ+12.5mg AA, PTZ+50mg AA) ارتباط معنی داری را نشان داد ($P < 0.001$) (نمودار شماره ۱).



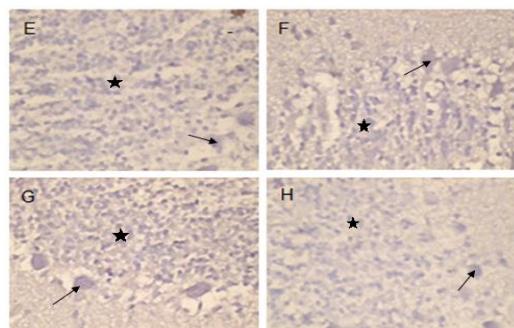
نمودار شماره ۱: میانگین و انحراف معیار نورون های سالم سلول های پورکنژ قشر مخچه در گروه های مورد مطالعه. بالاترین میانگین

می کردند نشان می دهد. تصویر G قشر مخچه موش های صرعی شده با پنتلین ترازول که دوز 25 mg/kg اسید اسکوریک را دریافت می کردند و تصویر H مقطع کرونال سلول های پور کنتر مخچه موش های صرعی شده را که سرم فیزیولوژی می گرفتند نشان می دهد. پیکان ها سلول های پور کنتر را که محدوده هسته از سیتوپلاسم آنها مشخص نیست نشان می دهن. ستاره ها بر لایه گگرانولار قشر مخچه دلالت دارند [بزرگنمایی $\times 400$ ، رنگ آمیزی اختصاصی ایمونو هیستوشیمی].

بحث

در مطالعه حاضر میانگین تعداد سلول های سالم پور کنتر قشر مخچه در موش های صحرایی نر صرعی شده که اسید اسکوریک می گرفتند به طور معنی داری بیش تراز گروهی از موش های صحرایی صرعی شده بود که سرم فیزیولوژی دریافت می کردند. مطالعه اکبری و همکارانش بر روی موش های صحرایی که تحت تاثیر امواج رادیویی^۱ قرار گرفته بودند نشان می دهد که اسید اسکوریک یک نقش محافظتی در کاهش زیان پار این امواج بر روی مخچه و مغز داشته است. نتیجه تحقیق حاضر با مطالعه فوق هم خوانی دارد هر چند که روش مطالعه حاضر با تحقیق فوق متفاوت است زیرا در مطالعه حاضر اثر محافظتی اسید اسکوریک بر روی نورون های سلول های پور کنتر قشر مخچه موش های صحرایی نر صرعی شده مورد بررسی قرار گرفت در حالی که در مطالعه اکبری و همکارانش نقش محافظتی اسید اسکوریک بر روی موش های صحرایی صرعی نشده مورد مطالعه قرار گرفته است^(۱۹). افزایش بقاء نورون های پور کنتر موجب بهبود عملکرد حرکتی و حسی می شود. نتایج مطالعه Santos و همکارانش بر روی موش های جوان پس از تشنجات با پیلو کارپین نشان از نقش محافظتی ویتامین C بر روی عصب دارد به طوری که پیش درمانی با اسید اسکوریک دوره تأخیری را برای تشنجات اولیه افزایش داد^(۱۰). در مطالعه حاضر نیز تعداد سلول های سالم پور کنتر قشر

ب) بررسی هیستوپاتولوژی سلول های پور کنتر با استفاده از روش ایمونو هیستوشیمی. تغییرات مورفولوژی مانند متراکم شدن هسته، تغییر مکان هسته از مرکز به محیط، مشخص نبودن محدوده هسته از سیتوپلاسم و اسیدوفیلی زیاد نورون های پور کنتر قشر مخچه در موش های صحرایی نر صرعی شده با پنتلین ترازول (PTZ) که سرم فیزیولوژی دریافت می کردند نسبت به موش های صحرایی نر که اسید اسکوریک دریافت می کردند بیش تر مشاهده شد که نشاندهای مرگ فیزیولوژی نورون های سالم پور کنتر قشر مخچه احتمالاً ناشی از پنتلین ترازول است. کم ترین تغییرات مورفولوژی یعنی کاهش اسیدوفیلی سیتوپلاسم و کاهش متراکم شدن هسته سلول نورون های سالم سلول های پور کنتر قشر مخچه در گروهی از موش های صحرایی نر مشاهده شد که دوز 25 میلی گرم بر کیلو گرم اسید اسکوریک دریافت می کردند. در موش های صحرایی که دوز های $12/5$ و 50 میلی گرم بر کیلو گرم اسید اسکوریک را دریافت می کردند اسیدوفیلی و مشخص نبودن محدوده هسته از سیتوپلاسم نسبت به گروهی از موش های صحرایی نر که دوز 25 میلی گرم بر کیلو گرم اسید اسکوریک را دریافت می کردند بیش تر مشاهده شد (تصاویر شماره ۱ و ۲).



تصویر شماره ۲: مقطع ۵ میکرونی کرونال از قشر مخچه موش های صحرایی با رنگ آمیزی ایمونو هیستوشیمی. در تصویر E پیکان به هسته در سلول های پور کنتر موش های صحرایی گروه صرعی شده که دوز $12/5 \text{ mg/kg}$ اسید اسکوریک دریافت می کردند اشاره دارد. تصویر F گروهی که دوز 50 mg/kg اسید اسکوریک را دریافت

1. Radio frequency wave

و مولکولی زیادی نقش دارند به طوری که چندین ژن P53 می‌شوند که یکی از مهم‌ترین این ژن‌ها ژن P53 است که در مطالعه حاضر کاهش تعدادی از نورون‌های سالم پورکنتر در موش‌های صحرایی که سرم فیزیولوژی با PTZ دریافت می‌کردند مشاهده شد. این کاهش می‌تواند احتمالاً از مضرات پنتلین ترازوول بر روی نورون‌های پورکنتر قشر مخچه باشد که برای کیندل شدن (صرعی شدن) موش‌های صحرایی مورد استفاده قرار گرفته بود. کاهش تعداد نورون‌های سالم، به هر علتی که ایجاد شود، از نظر بالینی مهم است زیرا مقدمه‌ای بر افزایش بیماری‌های عصبی است و منجر به کاهش عمر مفید در انسان می‌شود^(۲۳). از آنجایی که مطالعه‌ای در مور تاثیر اسید اسکوربیک بر روی سلول‌های پورکنتر قشر مخچه در موش‌های صحرایی صرعی شده با پنتلین ترازوول موجود نیست، پیشنهاد می‌شود مطالعات یشتری در زمینه تاثیر اسید اسکوربیک بر روی سیستم عصبی مرکزی حیوانات صرعی شده انجام گیرد. این مطالعه اولین گزارشی است که اثر اسید اسکوربیک بر روی سلول‌های پورکنتر قشر مخچه موش‌های صحرایی صرعی شده با پنتلین ترازوول را نشان می‌دهد.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که اسید اسکوربیک می‌تواند یک نقش محافظتی بر روی سلول‌های پورکنتر قشر مخچه موش‌های صحرایی نزدیکی شده داشته باشد و تا حد زیادی مضرات پنتلین ترازوول را کاهش دهد.

سپاسگزاری

از شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار به خاطر تصویب طرح فوق و هم‌چنین از دکتر محمد رضا مهاجرانی که در بررسی میکروسکوپی لام‌ها کمک کردن، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

مخچه در موش‌های صحرایی که اسید اسکوربیک دریافت می‌کردند بیشتر از گروهی از موش‌های صحرایی بود که سرم فیزیولوژی دریافت می‌کردند. افزایش میانگین سلول‌های سالم در حیوانات صرعی شده که اسید اسکوربیک دریافت می‌کردند ممکن است ناشی از خاصیت ضد اکسیدانی و ضد التهابی اسید اسکوربیک باشد که توانسته است تا حد زیادی مضرات پنتلین ترازوول را بر روی نورون‌های پورکنتر قشر مخچه به تاخیر بیندازد. گزارش‌های جدید نشان می‌دهند که اسید اسکوربیک موجب کاهش واکنش‌های استرسی در سلول^۱، کاهش آسیب DNA و انترلوکین^۶ TNF-a می‌شود^(۲۱). در مطالعه حاضر میانگین تعداد سلول‌های سالم پورکنتر قشر مخچه در دوز mg/kg ۲۵ و اسید ۵۰ mg/kg ۱۲/۵ mg/kg و ۲۵ mg/kg بیش تر بود. بنابراین، می‌توان گفت که دوز اسید اسکوربیک برای کاهش اثرات پنتلین ترازوول بر روی سلول‌های پورکنتر قشر مخچه دوز مناسبی است. مطالعه Manjula و همکارانش بر روی موش‌های نژاد ویستار نشان می‌دهد که تزریق ویتا مین C در موش‌هایی که تحت تاثیر سرما قرار گرفته بودند یک نقش محافظتی دارد که این نقش را از طریق تنظیم چندین آنزیم داخل سلولی از جمله کاتالاز، سوپرا اکسیداز و دسموتاز ایفا می‌کند^(۲۰). نتیجه مطالعه حاضر با تحقیق فوق متفاوت است زیرا در مطالعه حاضر اثر اسید اسکوربیک بر روی نورون‌های پورکنتر موش‌های بالغ صحرایی صرعی شده توسط پنتلین ترازوول امور دبررسی قرار گرفته است در حالی که Manjula و همکارانش نقش اسید اسکوربیک را بر روی موش‌های صحرایی که در معرض کاهش دمای محیط قرار گرفته بودند مورد مطالعه قرار دادند^(۲۰). در فرآیند مرگ سلول‌های دائمی یا نورونی که منجر به تشکیل اجسام آپوپتیک و تغییر موقعیت هسته در سلول می‌شود فاکتورهای سلولی

1. Reactive oxygen species

References

1. Camfield P, Camfield C. Incidence, prevalence and aetiology of seizures and epilepsy in children. *Epileptic Disord* 2015; [Epub ahead of print]
2. Sankaraneni R, Lachhwani D. Antiepileptic drugs-a review. *Pediatr Ann* 2015; 44(2): e36-42.
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. Inoue T, Matsumoto R, Ikeda A. Treatment of epilepsy in patients of adolescence and adulthood. *Nihon Rinsho* 2014; 72(5): 853-858.
5. Serdiuk SE, Gmiro VE, Veselkina OS. Stimulation of gastric mucosa afferents by phenylephrine potentiates anticonvulsive and eliminates sedative action of sodium valproate in the pentylenetetrazole kindling model in rats. *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova* 2014; 100(1): 96-104.
6. Jutila L, Immonen A, Partanen K, Partanen J, Mervaala E, Ylinen A, et al. Neurobiology of epileptogenesis in the temporal lobe. *Advances and Technical Standards in Neurosurgery* 2002; 27: 3-22.
7. Galic MA, Riazi K, Heida JG, Mouihate A, Fournier NM, Spencer SJ, et al. Postnatal inflammation increases seizure susceptibility in adult rats. *J Neuroscience* 2008; 28(27): 6904-913.
8. Chen Y, Luo G, Yuan J, Wang Y, Yang X, Wang X, et al. Vitamin C mitigates oxidative stress and tumor necrosis factor-alpha in severe community-acquired pneumonia and LPS-induced macrophages. *Mediators Inflamm* 2014; 2014: 426740.
9. Gonzalez-Ramirez M, Razo-Juarez LI, Sauer-Ramirez JL, Gonzalez-Trujano ME, Salgado-Ceballos H, Orozco-Suarez S. Anticonvulsive effect of vitamin C on pentylenetetrazole-induced seizures in immature rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2010; 97(2): 267-272.
10. Santos LF, Freitas RL, Xavier SM, Saldanha GB, Freitas RM. Neuroprotective actions of vitamin C related to decreased lipid peroxidation and increased catalase activity in adult rats after pilocarpine-induced seizures. *Pharmacol Biochem Behav* 2008; 89(1): 1-5.
11. Sayyah M, Mandgary A, Kamalinejad M. Evaluation of the anticonvulsant activity of the seed acetone extract of Ferula gummosa Boiss. against seizures induced by pentylenetetrazole and electroconvulsive shock in mice. *J Ethnopharmacol* 2002; 82(2-3): 105-109.
12. Barkai E, Grossman Y, Gutnick MJ. Long-term changes in neocortical activity after chemical kindling with systemic pentylenetetrazole: an in vitro study. *J Neurophysiology* 1994; 72(1): 72-83.
13. Tomé Ada R, Feitosa CM, Freitas RM. Neuronal damage and memory deficits after seizures are reversed by ascorbic acid? *Arg Neuropsiquiatr* 2010; 68(4): 579-585.
14. Park SK, Hwang IK, An SJ, Won MH, Kang TC. Elevated P/Q type (alpha1A) and L2 type (alpha1D) Purkinje cell voltage-gated calcium channels in the cerebella of seizure prone gerbils. *Mol Cells* 2003; 16(3): 297-301.
15. Kalume F, Yu FH, Westenbroek RE, Scheuer T, Catterall WA. Reduced sodium current in Purkinje neurons from Nav1.1 mutant mice: implications for ataxia in severe myoclonic

- epilepsy in infancy. *J Neurosci* 2007; 27(41): 11065-11074.
16. Gheytasi S, Vaezi Gh, Keramati K. Effects of Intracerebroventricular Injection of Alcoholic Extract of Hypericum Perforatum on Fear Behavior in Presence Pentylenetetrazole (PTZ) in Adult Male Rat. *Journal of Ilam University of Medical Sciences* 2009; 17(4): 36-44.
 17. Golmohammadi R, Pejhan A, Azhdari-Zarmehri H, Mohammad-Zadeh M. 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.
 18. Gown AM, Willingham MC. Improved Detection of Apoptotic Cells in Archival Paraffin Sections: Immunohistochemistry Using Antibodies to Cleaved Caspase 3. *J Histochem Cytochem* 2002; 50(4): 449-454.
 19. Akbari A, Jelodar G, Nazifi S. Vitamin C protects rat cerebellum and encephalon from oxidative stress following exposure to radiofrequency wave generated by a BTS antenna model. *Toxicol Mech Methods* 2014; 24(5): 347-352.
 20. Manjula KR, Subramanyam MV, Asha Devi S. Protection against oxidative stress caused by intermittent cold exposure by combined supplementation with vitamin E and C in the aging rat hypothalamus. *Neurochem Res* 2013; 38(4): 876-885.
 21. Dastjerdi 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.
 22. Golmohammadi R, Namazi MJ, Nikbakht M, Salehi M, Derakhshan MH. Characterization and Prognostic Value of Mutations in Exons 5 and 6 of the p53 Gene in Patients with Colorectal Cancers in Central Iran. *Gut Liver* 2013; 7(3): 295-302.
 23. Goh KJ, Tian S, Shahrizaila N, Ng CW, Tan CT. Survival and prognostic factors of motor neuron disease in a multi-ethnic Asian population. *Amyotroph Lateral Scler* 2011; 12(2): 124-129.