

## مقاله پژوهشی

## اثر ورزش بر ساختار بافتی سلول های پورکنژ قشر مخچه در موش صحرایی صرعی شده توسط پنتلین تترازول

رحیم گل محمدی<sup>۱\*</sup>، سید مهدی بهشتی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانشیار علوم تشریحی، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران  
<sup>۲</sup> مربی عضو هیئت علمی گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران  
<sup>\*</sup> نویسنده مسؤول: سبزوار، سا ختمان شماره ۲، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، گروه آناتومی  
 پست الکترونیک: Rahimgolmohammadi@Yahoo.com

وصول: ۹۲/۸/۲۹ اصلاح: ۹۲/۱۱/۵ پذیرش: ۹۲/۱۱/۶

### چکیده

**زمینه و هدف:** سلول های پورکنژ قشر مخچه مسیر اصلی خروجی پیام عصبی از مخچه محسوب می شوند این سلول ها در تنظیم عملکرد حرکتی و تعادلی نقش دارند از طرفی یکی از مشکلات بیماران صرعی اختلال در تنظیم عمل تعادل می باشد در رابطه با اثر ورزشی بر روی سلول های پورکنژ قشر مخچه در حیوانات صرعی شده با پنتلین تترازول گزارشات مدونی مشاهده نشد. لذا این مطالعه طراحی شد تا اثر ورزش بر روی سلول های پورکنژ قشر مخچه موش صحرایی صرعی شده با پنتلین تترازول بررسی شود.

**مواد و روش کار:** این مطالعه تجربی بر روی چهل سرموش نر صحرایی انجام شد موش های مورد مطالعه به صورت تصادفی در ۴ گروه ده تایی قرار گرفتند که شامل گروه ۱- سالم بدون تمرین ورزشی، ۲- گروه صرعی شده با PTZ بدون تمرین ورزشی ۳- گروه سالم که تمرین ورزشی می گرفتند، ۴- گروه صرعی شده با PTZ که تمرین ورزشی می گرفتند. پس از گذراندن دوره ورزش حیوانات با اثر بی هوش شدند و مخچه آن ها خارج و ثابت شد بعد از پاساژ بافتی، مقطع گیری کرومال انجام شد و سپس نمونه ها رنگ آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری Advanced motic plus بطور تصادفی سیستماتیک در چهل پنج میدان شمارش نوروئین های سالم پورکنژ انجام گرفت. داده ها با نرم افزار SPSS 11.5 استفاده از تست آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده از تست های دانست و دانکن تجزیه و تحلیل شدند. با روش ایمونوهیستوشیمی پس از ماسک زدایی با استفاده از آنتی بادی اختصاصی Caspas 3 مورفولوژی و میزان مرگ سلول های پورکنژ قشر مخچه نیز بررسی شد.

**یافته ها:** میانگین تعداد سلول های سالم پورکنژ قشر مخچه در موش های که صرعی شده بودند و ورزش می گرفتند (ورزش + PTZ) بطور معنی داری بیشتر از گروهی بود که صرعی شده (PTZ) و ورزش نمی گرفتند. این تغییرات در حیوانات سالم که ورزش می گرفتند بصورت معنی داری بیشتر از گروه کنترل و صرعی شده بود که ورزش نمی گرفتند. مرگ فیزیولوژی سلول های پورکنژ قشر مخچه در موش های صرعی شده بدون تمرین ورزشی بیشتر از سایر گروه های مورد مطالعه بود که تمرین ورزشی می گرفتند.

**نتیجه گیری:** بر اساس مطالعه حاضر این احتمال داده می شود که پنتلین تترازول مرگ فیزیولوژی نوروئین های پورکنژ قشر مخچه را تشدید می کند در حالیکه ورزش یک اثر مثبت در به تاخیر انداختن مرگ فیزیولوژی سلول های پورکنژ قشر مخچه دارد.

**واژه های کلیدی:** PTZ، ورزش، پورکنژ، موش صحرایی، مخچه، ایمونوهیستوشیمی

## مقدمه

مخچه ناحیه مهمی از مغز خلفی است که نقش اصلی در تعادل، کنترل هیجان و اعمال ظریف و دقیق دارد [۱]. آکسون سلول های پورکنز قشر مخچه بخشی مهمی از راه خروجی مخچه را تشکیل می دهند که در فرآیندهای نظم و انضباط حرکتی مشارکت دارند [۲]. از طرفی صرع یکی از بیماری های مهم سیستم عصبی مرکزی می باشد که هنوز درمان قطعی برای آن شناخته نشده است هرچند که داروهای فعلی تا حدود تشنجات ناشی از صرع را کنترل می کنند [۳]. یکی از روش های مطالعه صرع ایجاد تشنج از طریق مدل های رایج کیندلینگ شیمیایی است که توسط پنتلین تترازول در حیوانات آزمایشگاهی انجام می شود [۴]. آسیب و مرگ نورونی یکی از ضایعات ایجاد شده در صرع زایی و مغز بیماران صرعی است [۵]. بیماری های نوروییکی مختلفی وجود دارند که روی مرگ سلول های عصبی اثر می گذارند [۶، ۷]. از جمله بیماری که روی نورن های پورکنز اثر پاتولوژی به جا می گذارد آلزایمر می باشد [۸]. از طرفی فعالیت های بدنی منظم به عنوان یک ضرورت برای زندگی سالم می تواند بر همه اندامها و سیستم های بدن تأثیر بگذارد و بعضی مطالعات نشان می دهند که تمرینات ورزشی بر روی عملکرد سیستم عصبی مرکزی (CNS) نقش ارزنده ای دارد [۹، ۱۰]. مطالعات استریولوژی در موش های صحرایی نشان می دهد که تمرینات ورزشی در پیش گیری و یا تاخیر در مرگ سلول های پورکنز اثر دارد [۱۱]. مطالعه ای که توسط تورس<sup>۱</sup> و همکارانش انجام شده است نشان می دهد که ورزش منظم و فعالیت فیزیکی باعث تغییر فعالیت هیستوشیمی در NADPH-diaphoresis و NO سنتتاز می شود که با افزایش NO در سطح مولکولی سلولهای هیپوکامپ، جسم مخططی و مخچه موجب افزایش جریان خون در این منطقه و بهبود حافظه می شود [۱۲، ۱۳]. گزارشات دیگر نشان می دهد که ورزش می تواند در کاهش فراوانی تشنج نقش داشته باشد [۱۴]. در عین حال ترکیبات مختلفی از جمله اتانول و پنتلین تترازول روی بافت مغزی اثر می گذارند بطوریکه گزارش شده است که مصرف توام آنها موجب آسیب نورونی و عروقی در موش-

های سوری صرعی شده می شود [۱۵]. در حالیکه مطالعه سو<sup>۲</sup> و همکارانش نشان می دهد که ورزش موجب افزایش بقاء نورون های پورکنز قشر مخچه در موش های صحرایی تروماتیک شده می شود [۱۶]. مطالعه ی پارک<sup>۳</sup> و همکارانش نشان می دهد که کانال های کلسیمی سلول های پورکنز مخچه نسبت به تشنج حساس می باشند [۱۷]. گزارشات کالوم<sup>۴</sup> و همکارانش نشان می دهد که انقباضات شدید میوکلونیک در نوزادان صرعی شده موش موجب کاهش سلول های پورکنز مخچه می شود [۱۸]. ولی مطالعه ای مدونی مشاهده نشد که ورزش بر روی سلول های پورکنز مخچه موش های صرعی شده با پنتلین تترازول چه تاثیری بر روی سلول های پورکنز مخچه می گذارد لذا این مطالعه طراحی شد تا اثرات تمرین ورزشی بر تعداد سلول های سالم پورکنز قشر مخچه موش صحرایی صرعی شده با پنتلین تترازول بررسی شود.

## روش کار

موش های نر در محدوده وزنی ( $250 \pm 50$  گرم)، گرم از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی سبزوار تهیه شد. پس از عادت حیوانات با محیط جدید در یک دوره ۱۰ روزه در شرایط استاندارد از نظر غذا، روشنایی و دما قرار گرفتند [۱۹].

برنامه تمرین تجربی به منظور افزایش اکسیداسیون میتوکندریایی در عضله اسکلتی حداقل نیازمند ۴ هفته تمرین است که طبق دستور زیر انجام شد [۲۰]. گروه تمرینی شش روز در هفته و به مدت ۶ هفته روی تردمیل به انجام تمرینات هوازی (دویدن) پرداختند. به منظور آشنا سازی حیوانات با تردمیل و به حداقل رساندن استرس موش ها، ۳ روز قبل از شروع پروتکل بصورت فزاینده روی تردمیل تمرین داده شد (۳ روز، ۱۰ دقیقه، سرعت ۱۲ متر بر دقیقه). حیوانات بی میل به دویدن روی تردمیل در دوره آشناسازی حذف شدند و موش های صحرایی جدید جایگزین شدند. بعد از این مرحله برنامه تمرینی آغاز شد. موش ها هر روز ۳۰ دقیقه، با سرعت ۱۸ متر بر دقیقه به مدت یک هفته روی تردمیل دویدند. در

2- Seo

3- Park

4 Kalume

1 -Torres

Dunnett برای مقایسه میانگین گروه‌های تجربی با شاهد و تست Duncan با ضریب آلفای ۰/۵ (Subset for  $\alpha = 0/05$ ) برای میانگین داخل گروه‌های تجربی مورد استفاده قرار گرفتند سطح همه آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ معنی دارد در نظر گرفته شد.

ایمونوهیستوشیمی: پس از مقطع‌گیری ۵ میکرونی از ناحیه قشر مخچه با میکروتوم بر روی محدودی از لام‌های با استفاده از روش معمول آویدن- بیوتین- ایمونوپراکسیداز رنگ آمیزی اختصاصی انجام شد، مراحل انجام کار دما و غلظت‌های آنتی‌بادی برطبق دستور کیت آپوپتوز (Roche) انجام گرفت بدین ترتیب که پس از پارافین زدایی نمونه‌ها با گزلیل، ماسک زدایی محل شاخص‌های آنتی‌ژنیک با میکروویو بافر سیترات انجام شد، برای مهار فعالیت اندوژناز پراکسیداز به مدت ۳۰ دقیقه در محلول ۳ درصد آب اکسیژنه قرار داده شد و مجدداً با بافر فسفات سا لین لام‌ها شستشو داده شد. با آنتی‌بادی (rabbit anti-cleaved caspase 3 antibody) Biotinylated HRP روی لام‌ها چکانده شد. از استرپتو آویدین متصل به HRP که قادر است دی‌آمینو بنزیدین (DAB) را اکسید کند، برای رنگ آمیزی هسته استفاده شد و با میکروسکوپ نوری بررسی و تصویر گرفته شد [۲۳، ۲۲].

#### یافته‌ها

نتایج سلولی شمارش شده در لایه ی پورکنژ قشر مخچه عبارت است:

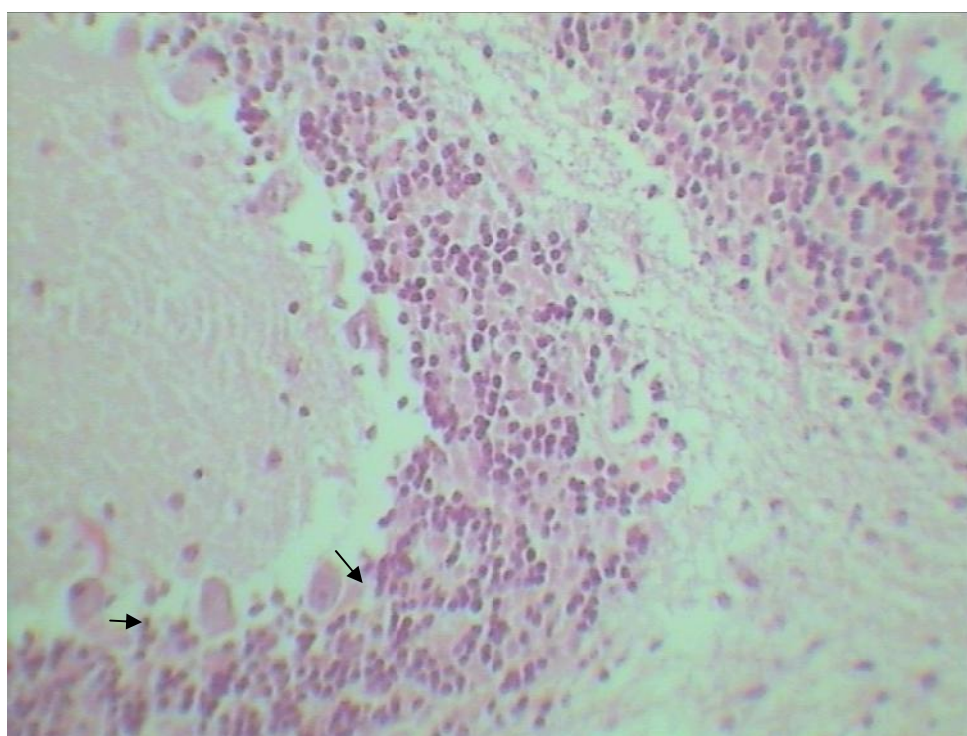
الف - میانگین تعداد سلول‌های سالم در لایه ی پورکنژ قشر مخچه در گروهی از حیوانات تجربی که صرع شده بودند و ورزش می‌گرفتند (ورزش + PTZ) بیشتر از گروهی بود که صرع شده (PTZ) و ورزش نمی‌گرفتند این ارتباط از نظر آماری معنی‌داری بود ( $P < 0/001$ ). همچنین این تغییرات در حیواناتی سالم که ورزش می‌گرفتند بیشتر از گروه کنترل و صرع شده بود که ورزش نمی‌گرفتند این ارتباط از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0/001$ ). میانگین تعداد سلول‌های سالم لایه ی پورکنژ قشر مخچه بین گروه سالم که تمرین ورزشی نمی‌گرفتند با گروه صرع شده (که تمرین ورزشی نمی‌گرفتند) از نظر آماری ارتباط معنی‌دار بود ( $P < 0/001$ ) جدول ۱.

آغاز هفته دوم موش‌ها با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه تمرین کنند. در ادامه موش‌ها روزانه یک ساعت با سرعت ۲۴-۲۶ متر بر دقیقه به مدت دو هفته تمرین داده شدند. این سطح از تمرین در طول دو هفته آخر برنامه تمرینی ثابت بود [۲۱]. پس از دست‌آموز کردن حیوانات، چهار گروه (هر گروه ۱۰ سر) به صورت تصادفی انتخاب شدند که شامل چهار گروه زیر است ۱- گروه کنترل: حیوانات سالم بدون فعالیت بدنی. ۲- گروه کیندل: به منظور صرع کردن حیوانات، از روش کیندلینگ شیمیایی یعنی PTZ به میزان ۴۰ mg/kg استفاده شد که به صورت داخل صفاقی هر ۴۸ ساعت ۱ بار به موش‌ها تزریق شد ۳- گروه کنترل تمرین: حیوانات سالمی که پروتوکل تمرینی را دریافت کردند. ۴- گروه کیندل و تمرین: تمامی مراحل کار مربوط به حیوانات این گروه مشابه گروه دوم می‌باشد به استثنای اینکه پس از کیندل شدن حیوان پروتوکل تمرینی را دریافت می‌کنند. توضیح اینکه یک ساعت قبل از انجام کار به حیوانات گروه دوم و چهارم PTZ و گروه اول و دوم نرمال سالین تزریق شد. همچنین حیوانات گروه اول و دوم نیز در طول مدت تمرینات ورزشی (به مدت ۶ هفته) در محیط تمرین قرار گرفتند [۱۹]. پس از بیهوشی عمیق با اتر و تزریق سرم فیزیولوژی و فرمالین مجمه حیوان برداشته شد و مخچه حیوان خارج و در داخل ظرف محتوی فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. پس از تعویض فرمالین پاساژ بافتی (Tissue processing) انجام گرفت و پس از شفاف‌سازی و آنفیلتراسیون با فتی قالب‌گیری (Embedding) با پارافین و مقطع‌گیری کرومال به صورت تصادفی سیستماتیک با میکروتوم انجام شد و پس‌از رنگ آمیزی با همتوکسیلین و اتوزین به طور تصادفی اما سیستمیک ۴۵ میدان دید از هر گروه با میکروسکوپ نوری Motic و نرم افزار Advanced motic plus2 با بزرگنمایی  $\times 400$  بررسی و تصویر گرفته می‌شود. در نهایت شمارش نوروں‌های سالم پورکنژ توسط دو نفر به صورت مجزا و به مساحتی به ابعاد  $8 \times 8 \text{ mm}^2$  انجام گرفت [۱۴] همچنین مورفولوژی ساختار سلول‌های پورکنژ مخچه بررسی گردید. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۱/۵) با آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده از تست‌های

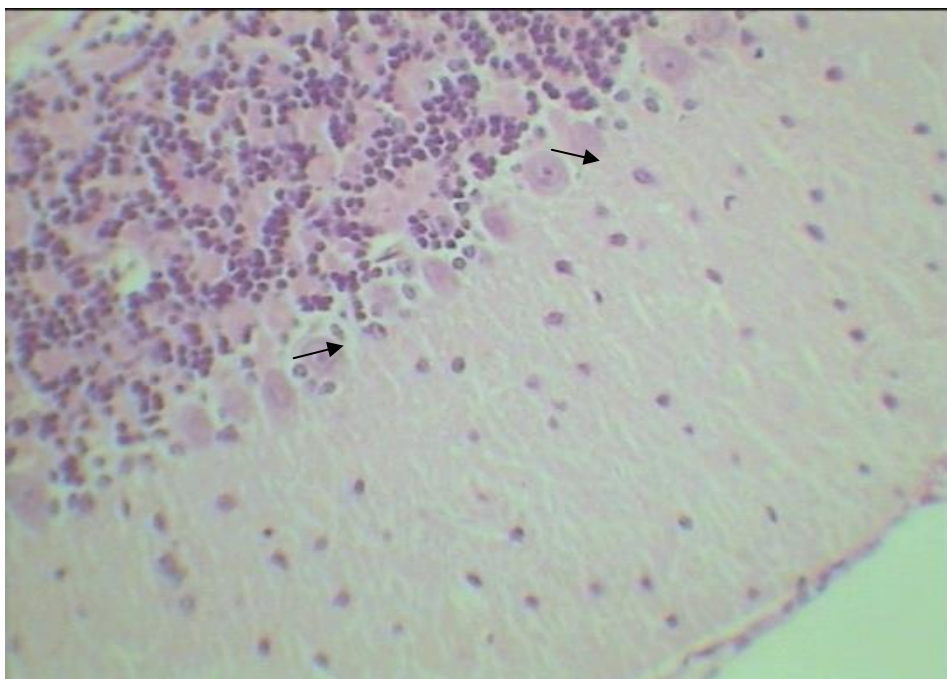
جدول ۱: میانگین و انحراف معیار تعداد نوروں های بافتی سلول های پورکنز قشر مخچه سالم و صرعی شده با پنتلین تترازول با تمرینات ورزشی و بدون ورزش در گروه های مورد مطالعه

میانگین و انحراف گروه	حد بالا	حد پائین	انحراف معیار $\pm$ میانگین
گروه سالم بدون تمرینات ورزشی*	۳/۵۹۵۸	۲/۹۳۷۶	۳/۲۶۶۷ $\pm$ ۱/۰۹۵۴۵
گروه صرعی بدون تمرینات ورزشی	۲/۰۵۴۵	۱/۶۷۸۸	۱/۸۶۶۷ $\pm$ ۰/۶۲۵۲۳
گروه سالم با تمرینات ورزشی*	۴/۳۲۳۳	۳/۵۸۷۸	۳/۹۵۵۶ $\pm$ ۱/۲۲۳۹۲
گروه صرعی با تمرینات ورزشی*	۳/۱۳۱۳	۲/۵۱۳۱	۲/۸۲۲۲ $\pm$ ۱/۰۲۸۸۸

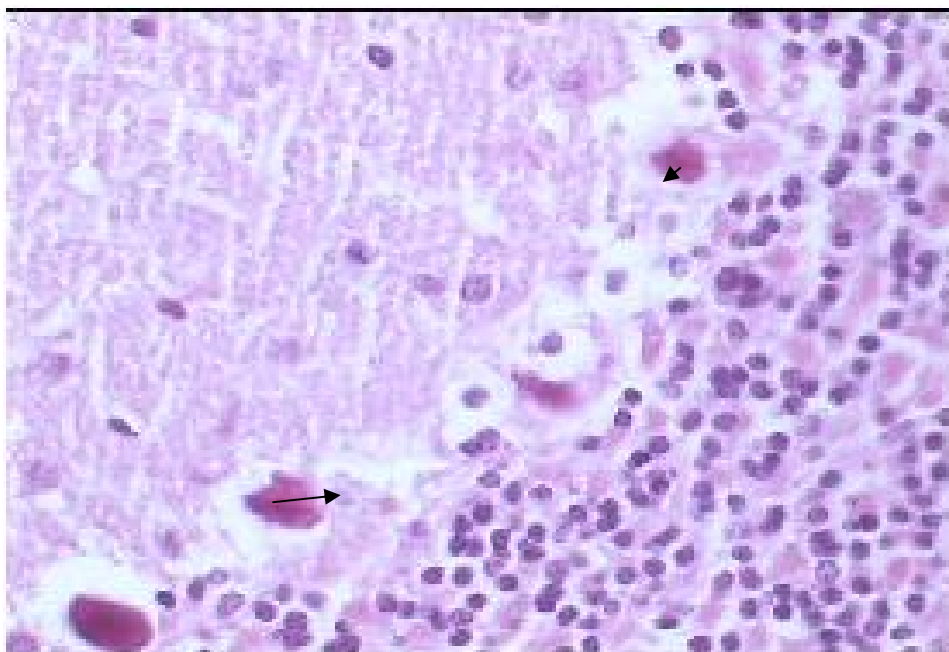
علامت\* تغییرات معنی دار آماری را بین گروه های صرعی شده که تمرینات ورزشی نمی گرفتند با گروه صرعی شده و سالم که تمرینات ورزشی می گرفتند نشان می دهد



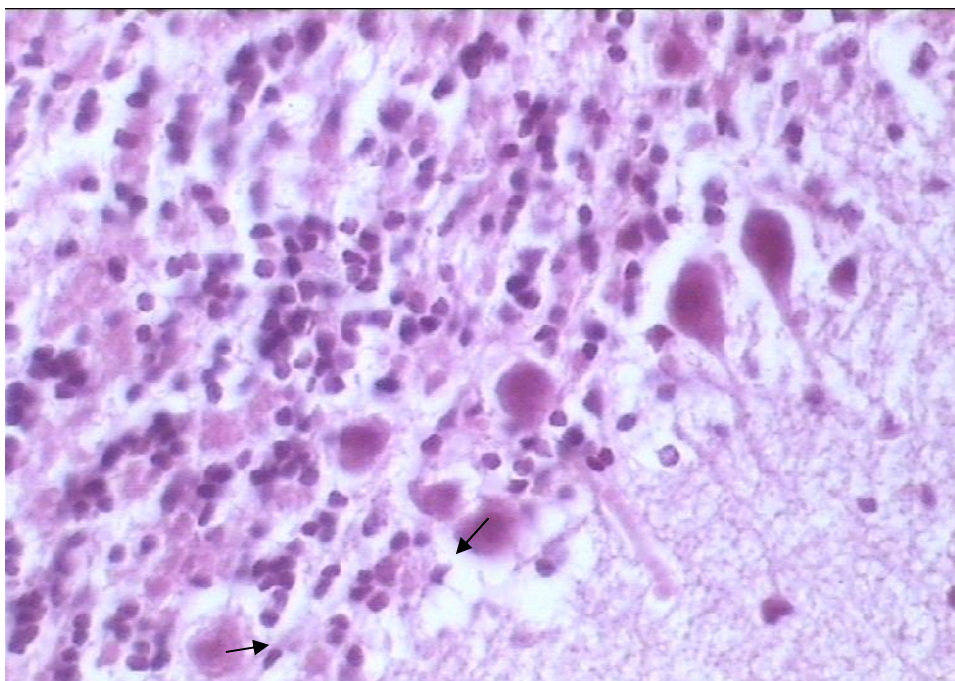
شکل ۱: مقطع کروئال ۵ میکرونی بافت مغزی قشر مخچه گروهی از موش های صحرایی سالم که تمرین ورزشی دریافت نمی کردند (بزرگنمایی  $\times 400$ ). پیکان کوتاه هسته و پیکان بلند سیتوپلاسم نوروں های پورکنز را نشان می دهند.



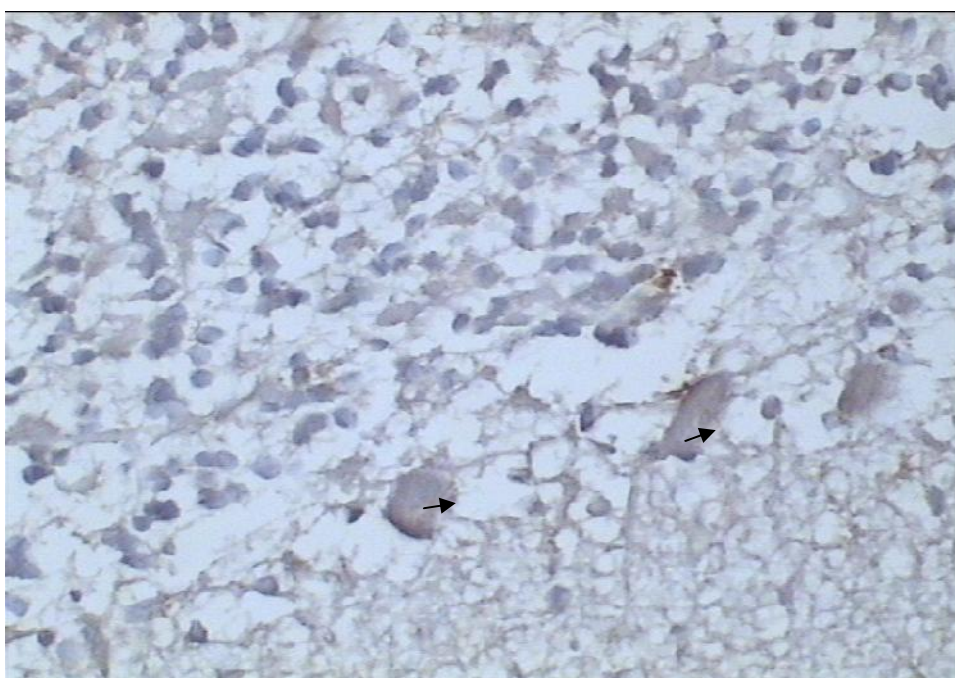
شکل ۲: مقطع کروئال ۵ میکرونی بافت مغزی قشر مخچه گروهی از موش ها صحرایه سالم که تمرین ورزشی می گرفتند (بزرگنمایی  $\times 400$ ). پیکان ها کوتاه هسته پیکان بلندسیتو پلاسم نورون ها پورکنز را نشان می دهند.



شکل ۳: مقطع کروئال ۵ میکرونی بافت مغزی ورزشی نمی گرفتند بافت مغزی قشر مخچه سلول های پورکنز گروهی از موش ها صحرایه صرعی شده با پنتلین تترازول (PTZ) که تمرین ورزشی نمی گرفتند (بزرگنمایی  $\times 400$ ) پیکان های کوتاه و بلند سلول های پورکنز مخچه نشان می دهد که هسته و سیتو پلاسم قابل تفکیک از یکدیگر نیستند



شکل ۴: مقطع کروئال ۵ میکرونی بافت مغزی قشر مخچه سلول‌های پورکنز گروهی از موش‌ها صحرایی صرعی که تمرین ورزشی می‌گرفتند (بزرگنمایی  $\times 400$ ) پیکان‌ها هسته و سیتوپلاسم نورون‌ها را نشان می‌دهند. پیکان‌ها ی کوتاه سلول سالم و پیکان بلند سلولی را نشان می‌دهد که هسته و سیتوپلاسم آن‌ها از یکدیگر غیر قابل تفکیک هستند.



شکل ۵: مقطع کروئال ۵ میکرونی بافت مغزی قشر مخچه گروهی از موش‌ها صحرایی صرعی شده که تمرین ورزشی دریافت نمی‌کردند (بزرگنمایی  $\times 400$ ) رنگ آمیزی اختصاصی ایمونو هیستوشیمی با مارکر اختصاصی (caspase3) پیکان‌ها هسته و سیتوپلاسم نورون‌ها پورکنز قشر مخچه تغییر شکل یافته را نشان می‌دهد بطوریکه هسته از سیتوپلاسم غیر قابل تفکیک و هسته از مرکز سلول به جدار غشای سیتوپلاسمی جابجا شده است در واقع نورون‌های پورکنز دچار مرگ سلولی شده‌اند.

در مطالعه حاضرات تمرینات ورزشی بر روی نوروں های سالم سلول های پورکنز قشر مخچه موش های صحرایی صرعی شده انجام شده است در حالیکه در مطالعه سو اثرات تمرینات ورزشی بر روی موش های تروماتیک شده انجام گردیده است [۱۸]. افزایش بقاء نوروں های پورکنز موجب بهبودی عملکردی حرکتی وحسی را سبب می شود. تحقیق کریم زاده و همکارانش نشان می دهد که پنتلین تترازول در موش صحرایی موجب کاهش نوروں های هیپوکامپ می شود و بالعکس کنترل رژیم غذایی (Periodic fasting) یک نقش محافظتی برای نوروں ها (neroprotective) در موش های صرعی شده دارد [۲۴]. در پژوهش حاضر نیز میانگین سلو های بافتی سلول های پورکنز قشر مخچه در موش های صرعی شده که تمرینات ورزشی نمی گرفتند بطور معنی داری کمتر از موش های صرعی شده بود که تمرینات ورزشی می گرفتند مطالعه حاضر با تحقیق کریم زاده همخوانی دارد هر چند که اثرات ورزش در دو مکان مختلف از قشر مغز (هیپوکامپ و پورکنز مخچه) بررسی شده اند. با توجه به اینکه عمل سلول های پورکنز قشر مخچه یکی از نواحی کنترل تعادل در مغز است این کاهش نوروںی می تواند ناشی از افزایش مرگ نوروں های پورکنز باشد. و افزایش نوروں های سالم می تواند احتمالاً ناشی از اثرات مثبت تمرینات ورزشی باشد که افزایش مقامت نوروں ها را در برابر صرع تجربی ناشی از تزریق پنتلین تترازول (PTZ) موجب شده است پژوهشی که توسط انیول<sup>۱</sup> و همکارانش انجام شده است نشان می دهد که تزریق یک دوز پنتلین تترازول در مراحل اولیه موجب کاهش پرولیفراسیون و تمایز در سلول های هیوکامپ می شود ولی تزریق چندین دوز (تزریق برای مدت طولانی) به تدریج اثر افزایشی روی نوروں های هیپوکامپ دارد [۱۹] با توجه به اینکه در مطالعه حاضر از پنتلین تترازول (PTZ) به مدت طولانی به منظور صرعی کردن تجربی در موش های صحرایی استفاده شد کاهش تعداد سلول های پورکنز قشر مخچه احتمالاً مرتبط به اثرات طولانی مدت این داروی شیمیایی است، مطالعه حاضر با اثرات اولیه تحقیقات انیول همخوانی دارد ولی با بخش دوم مطالعه فوق همخوانی ندارد. بعضی مطالعات

ب- یافته های بافت شناسی حاصل از این مطالعه در مقاطع میکروسکوپی تهیه شده از قشر مخچه موش های صحرایی که به وسیله ی پنتلین تترازول (PTZ) صرعی شده و تمرین ورزشی نمی گرفتند نشان می دهد که تعداد سلول های سالم در موش های صرعی شده از گروه کنترل (سالم)، صرعی و سالم که تمرین ورزشی می گرفتند کمتر است. بالعکس تغییر مورفولوژی مشخص در هسته و سیتوپلاسم سلول های پورکنز قشر مخچه بصورت غیرقابل تفکیک بودن هسته و سیتوپلاسم از یکدیگر در موش های صرعی شده که تمرین ورزشی نمی گرفتند از گروه صرعی که تمرین ورزشی می گرفتند، بیشتر مشاهده شد (تصاویر ۱ تا ۴).

ج- رنگ آمیزی اختصاصی ایمونوهیستوشمی اگر چه مرگ فیزیولوژی نوروں ها را در بافتی سلول های پورکنز قشر مخچه نشان داد ولی افزایش مرگ فیزیولوژی (آپوپتوز) سلول های بافتی سلول های پورکنز قشر مخچه در گروه های صرعی شده بدون تمرین ورزشی از سایر گروه های تجربی (گروه سالم بدون تمرین ورزشی سالم با تمرین ورزشی و گروه صرعی شده که تمرین ورزشی می گرفتند) بیشتر بود. افزایش مرگ سلولی در موش های صرعی شده بدون تمرین ورزشی می تواند احتمالاً ناشی از اثر پنتلین تترازول (PTZ) باشد که به منظور صرعی کردن حیوانات استفاده شد و افزایش میانگین تعداد سلول سالم بافتی سلول های پورکنز قشر مخچه در موش های که تمرین ورزشی می گرفتند می تواند از اثرات مثبت تمرینات ورزشی بر موش های صرعی شده باشد.

#### بحث

در مطالعه حاضر بطور معنی داری افزایش میانگین تعداد سلول های سالم پورکنز قشر مخچه در موش های صحرایی صرعی شده که تمرین ورزشی می گرفتند درمقایسه با موش های صرعی شده که تمرین ورزشی نمی گرفتند مشاهده شد. مطالعه ی که توسط محقق بنام سو و همکارانش بر روی موش های صحرایی که مغز آنها دچار ضایعه (تروماتیک) شده است نشان می دهد که ورزش در افزایش بقاء نوروں های پورکنز قشر مخچه نقش دارد، تحقیق حاضر با مطالعه فوق همخوانی دارد هر چند که روش مطالعه حاضر با تحقیق سو تفاوت دارد زیرا که

موش‌های صرعی شده بالغ اثر پنتلین تترازول استفاده شده است در حالیکه در مطالعه لومویو اثر پنتلین تترازول بر روی فرآیند تکامل قشر مخچه بررسی شده است [۲۸]. در فرآیند مرگ سلول‌های دائمی یا نورونی که منجر به تشکیل اجسام آپوپتیک و تغییر موقعیت هسته در سلول می‌شود فاکتورهای سلولی و مولکولی زیادی نقش دارند بطوریکه چندین ژن فعال می‌شوند که یکی از مهمترین این ژن‌ها ژن P ۵۳ می‌باشد [۳۰، ۲۹] لذا برای بررسی بیشتر اثرات ورزش بر روی نورون‌های پورکنز حیوانات صرعی شده با پنتلین تترازول پیشنهاد می‌شود در سطح مولکولی بیان ژن‌های که در بقاء و یا مرگ نورونی‌های پورکنز فعال می‌شوند مطالعه شود.

#### نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه در مطالعه حاضر کاهش نورون‌های سالم پورکنز قشر مخچه در موش‌های صحرایی بدون تمرین ورزش در مقایسه با گروه صرعی شده معنی‌دار بود این احتمال داده می‌شود که پنتلین تترازول مرگ فیزیولوژی سلول‌های پورکنز قشر مخچه را تشدید کرده است در حالیکه تمرینات ورزشی موجب افزایش پایداری نورونی پورکنز شده است.

#### تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار به خاطر تامین هزینه‌های طرح به شماره ۱۲۲/۹۱۲۸۵ همچنین از آقای دکتر محمد رضا مهاجری و کارشناس آزمایشگاه ایمنو هیستوشیمی سرکارخانم محمودی به منظور کمک در انجام بخشی از کار تقدیر و تشکر می‌شود.

دیگر نشان می‌دهند که صرع ناشی از پنتلین تترازول موجب مرگ نورونی می‌شود [۱۹] پژوهش نصیر<sup>۱</sup> و همکارانش نشان می‌دهد که پنتلین تترازول موجب القای دژنراتیو نورونی و القای آپوپتیک در نورون‌ها می‌شود در حالیکه ویتامین C یک نقش محافظتی برای نورون‌ها در موش‌های صحرایی بالغ دارد این مطالعه با تحقیق حاضر همخوانی دارد هر چند که روش مطالعه حاضر با تحقیق فوق تفاوت دارد زیرا به جای ویتامین C در مطالعه حاضر تمرینات ورزشی استفاده شده است [۲۵]. همچنین مطالعه‌ی تاکچی<sup>۲</sup> و همکارانش نشان می‌دهد که داروی پنتلین تترازول که به منظور صرعی کردن حیوانات آزمایشگاهی استفاده شد در موش‌های سوری موجب کاهش حافظه گردیده است [۲۶]. با توجه به اینکه سلول‌های پورکنز قشر مخچه نقش اصلی را در تعادل سیستم حسی حرکتی دارند بنابراین اختلال عملکردی می‌تواند احتمالاً ناشی از مرگ نورون‌های پورکنز در بیماران صرعی باشد و ورزش می‌تواند فرآیند مرگ سلولی را به تاخیر بیندازد به عبارتی دیگر موجب افزایش بقاء در نورون‌های پورکنز شود. تحقیقی که توسط اپس<sup>۳</sup> و همکارانش انجام شده است نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی در موش‌های صحرایی موجب افزایش galanin mRNA در سلول‌های ناحیه ای ویژه‌ای از مغز که لوکوس سرلوس نامیده می‌شود می‌گردد که نتیجتاً منجر به کاهش افسردگی در موش‌های صرعی شده می‌شود [۲۷] مطالعه حاضر با این مطالعه همخوانی دارد هر چند که روش مطالعه حاضر با مطالعه ی آقای اپس متفاوت است. مطالعات لومویو<sup>۴</sup> و همکارانش که به روی موش‌های نژاد ویستار انجام شده است که مراحل تکاملی را می‌گذرانند نشان می‌دهد که تزریق پنتلین تترازول (PTZ) موجب کاهش تکتیر سلولی در لایه ژرمینال خارجی قشر مخچه و همچنین کاهش سلول‌های پورکنز می‌شود مطالعه حاضر با تحقیق فوق همخوانی دارد هر چند که روش‌های مطالعه حاضر با تحقیق فوق تفاوت دارد زیرا در مطالعه حاضر بر روی

- 1- Naseer
- 2- Takechi
- 3- Epps
- 4- Lomoio



## 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 Jul-Aug;46(7):845-57 .
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 Dec;978:273-88.
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 Oct;27(10):817-27.
4. Traynelis SF, Dingledine R, McNamara JO, Butler L, Rigsbee L, Effect of kindling on potassium-induced electrographic seizures in vitro, *Neuroscience letters* 1989;105(3):326-32.
5. 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;27:5.
6. Reith RM, Way S, McKenna J 3rd, Haines K, Gambello MJ, *Neurobiol Dis*. Loss of the tuberous sclerosis complex protein tuberin causes Purkinje cell degeneration, *Neurobiol Dis*. 2011 Jul;43(1):113-22.
7. Kiessling MC, Büttner A, Butti C, Müller-Starck J, Milz S, Hof PR, Frank HG, Schmitz C, Intact numbers of cerebellar purkinje and granule cells in sudden infant death syndrome: a stereologic analysis and critical review of neuropathologic evidence, *J Neuropathol Exp Neurol*, 2013 Sep;72(9):861-70.
8. Mavroudis IA, Manani MG, Petrides F, Petsoglou K, Njau SD, Costa VG, Baloyannis SJ, Dendritic and spinal pathology of the Purkinje cells from the human cerebellar vermis in Alzheimer's disease, *Psychiatr Danub* 2013 Sep;25(3):221-6.
9. Berchtold NC, Chinn G, Chou M, Kesslak JP, Cotman CW, Exercise primes a molecular memory for brain-derived neurotrophic factor protein induction in the rat hippocampus, *Neuroscience* 2005;133(3):853-61.
10. Cotman CW, Berchtold NC, Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity, *Trends in neurosciences* 2002;25(6):295-301.
11. Larsen JO, Skalicky M, Viidik A. Does long-term physical exercise counteract age-related Purkinje cell loss? A stereological study of rat cerebellum , *J Comp Neurol* 2000 Dec 11;428(2):213-22
12. Torres JB, Assuncao J, Farias JA, Kahwage R, Lins N, Passos A, "et al", NADPH-diaphorase histochemical changes in the hippocampus, cerebellum and striatum are correlated with different modalities of exercise and watermaze performances, *Experimental brain research Experimentelle Hirnforschung* 2006;175(2):292-304.
13. Peixinho-Pena LF, Fernandes J, de Almeida AA, Novaes Gomes FG, Cassilhas R, Venancio DP, de Mello MT, Scorza FA, Cavaleiro EA, Arida RM ,A strength exercise program in rats with epilepsy is protective against seizures, *Epilepsy Behav*. 2012 Nov;25(3):323-8.
14. Leavitt VM, Cirmigliaro C, Cohen A, Farag A, Brooks M, Wecht JM, Wylie GR, Chiaravalloti ND, Deluca J *Neurocase*. Aerobic exercise increases hippocampal volume and improves memory in multiple sclerosis: Preliminary findings. 2013 Oct 4.
15. 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 2013 Jul;34(7):1125-31 [Persian]
16. Seo TB, Kim BK, Ko IG, Kim DH, Shin MS, Kim CJ, Yoon JH, Kim H, Effect of treadmill exercise on Purkinje cell loss and astrocytic reaction in the cerebellum after traumatic brain injury. *Neurosci Lett* 2010 Sep 13;481(3):178-82.
17. 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 Dec 31;16(3):297-301.
18. 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 Oct 10;27(41):11065-74.
19. Aniol VA, Stepanichev MY, Lazareva NA, Gulyaeva NV, An early decrease in cell proliferation after pentylenetetrazole-induced

- seizures, *Epilepsy Behav.* 2011 Nov;22(3):433-41.
20. Baldwin KM, Cooke DA, Cheadle WG, Time course adaptations in cardiac and skeletal muscle to different running programs, *Journal of Applied Physiology* 1977;42(2):267-72.
21. Arida RM, Fernandes MJ, Scorza FA, Preti SC, Cavalheiro EA, Physical training does not influence interictal LCMRglu in pilocarpine-treated rats with epilepsy, *Physiology & behavior* 2003;79(4-5):789-94.
22. 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):449-54.
23. Allen M. Gown and Mark C, Willingham ,Improved Detection of Apoptotic Cells in Archival Paraffin Sections: Immunohistochemistry Using Antibodies to Cleaved Caspase 3, *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 2002: 50(4): 449–454, (<http://www.jhc.org>).
24. Karimzadeh F, Jafarian M, Gharakhani M, Razeghi Jahromi S, Mohamadzadeh E, Khallaghi B, Kolivand PH, Kazemi H, Coulon P, Gorji A. Behavioural and histopathological assessment of the effects of periodic fasting on pentylenetetrazol-induced seizures in rats, *Nutr Neurosci.* 2013 Jul;16(4):147-52[Persian]
25. Naseer MI, Ullah I, Ullah N, Lee HY, Cheon EW, Chung J, Kim MO. *Pak J Pharm Sci., Neuroprotective effect of vitamin C against PTZ induced apoptotic neurodegeneration in adult rat brain* 2011 Jul;24(3):263-8.
26. Takechi K, Suemaru K, Kawasaki H, Araki H, [Impaired memory following repeated pentylenetetrazol treatments in kindled mice], *Yakugaku Zasshi* 2012;132(2):179-82.
27. Epps SA, Kahn AB, Holmes PV, Boss-Williams KA, Weiss JM, Weinschenker D, Antidepressant and anticonvulsant effects of exercise in a rat model of epilepsy and depression comorbidity, *Epilepsy Behav.* 2013 Oct;29(1):47-52.
28. Lomoio S, Necchi D, Mares V, Scherini E, A single episode of neonatal seizures alters the cerebellum of immature rats, *Epilepsy Res.* 2011 Jan;93(1):17-24
29. Dastjerdi MN, Salahshoor MR, Mardani M, Rabbani M, Hashemibeni B, Gharagozloo M, Kazemi M, Esmaeil N, Roshankhah Sh, Golmohammadi R, Mobarakian M, The apoptotic effects of sirtuin1 inhibitor on the MCF-7 and MRC-5 cell lines, *Res Pharm Sci.* 2013 Apr;8(2):79-89[Persian]
30. 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 May;7(3):295-302[Persian]

Original Article

## The effect of study physical exercise on histological structure of purkinje of cerebellum in epileptic rat by pentyleneterazole

Golmohammadi R<sup>1</sup>, Behasht i M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Associtat Professor of Anatomical Sciences, School of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

<sup>2</sup>Instructor of Physiology, School of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

**\*Corresponding Author:**

Rahim Golmohammadi,  
Department of Anatomy,  
Sabzevar University of  
Medical Sciences, Sabzevar,  
Iran.

E-mail:

rahimgolmohammadi@yahoo.c  
om

---

**Abstract**

**Background and Objective:** There is no report on the effect of exercise on purkinje cells in cerebellum of by pentyleneterazole (PTZ) induced epileptic rats. Purpose of this study was to determine the effect of physical exercise on cerebellum purkinje cells in epileptic rats.

**Materials and Methods;** Forty adult male rats were randomly divided into four equal groups( n=10)including: (1-PTZ+ without exercise, 2- Control+ without exercise, 3- PTZ + exercise, 4- Control + exercise groups). Kindling was done by PTZ ( 40 mg/kg). After 6 week rats were anesthetized and cerebellum dissected out and fixed in formalin. After tissue processing and sectioning, the sections were stained by routine and especial method. Data were analyzed using ANOVA test.

**Results:** The results showed significantly increased the mean number of purkinje cells in cerebellum of the group PTZ+ exercise compared to the PTZ without exercise group. Furthermore, the mean normal cells of purkinje in cerebellum were significantly increased in control + exercise group compared to the control group. The obtained results showed increase Program cell death of of purkinje in the PTZ group of cerebellum compared to the other groups.

**Conclusion:** Decreased number of normal purkinje cells in cerebellum of epileptic rats would be probably related with increase in rate of purkinje cells apoptosis , whereas exercises has positive effect on delaying the apoptosis of purkinje cells.

**Key Words:** purkinje , cerebellum , Exercise, PTZ, rat, Immunohistochemistry

---

**Submitted:**20 Nov 2013

**Revised:**25 Jan 2014

**Accepted:**26 Jan 2014