

تأثیر عصاره‌ی آبی شوید (*Anethum graveolens*) بر تعداد و ساختار سلول‌های پورکنژ قشر مخچه در موش سوری صرعی شده

دکتر رحیم گل محمدی^۱، دکتر سید مهدی زرگریان^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مخچه در تعادل و حفظ تونسیته‌ی عضلانی نقش اصلی را دارد. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر عصاره‌ی آبی شوید (*Anethum graveolens*) بر ساختار بافتی و تعداد سلول‌های پورکنژ قشر مخچه در موش سوری صرعی شده بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، موش‌های سوری به صورت تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. چهار گروه، با تزریق ۱۲ دوز پنتلین ترازول (PTZ) به میزان ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، طی ۲۴ روز صرعی شدند و سپس، یک گروه سرم فیزیولوژی و پنتلین ترازول و سه گروه دیگر، سه دوز متفاوت ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی شوید به مدت ۲۱ روز دریافت کردند؛ گروه پنجم شاهد بود که سرم فیزیولوژی دریافت می‌کرد و صرعی نشد. موش‌های سوری پس از گذراندن دوره‌ی درمان، با اثر بی‌هوش شدند و مخچه‌ی آن‌ها خارج شد. پس از پاساژ بافتی و مقطع‌گیری کروئال، اسلایدها با هماتوکسیلین-آئوزین رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری به طور تصادفی سیستماتیک چهل میدان انتخاب و شمارش نورون‌های سالم پورکنژ انجام گرفت. با روش ایمونوهیستوشیمی نیز تغییرات مورفولوژی سلول‌های پورکنژ بررسی شد. داده‌ها با آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA یا Analysis of variance) تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: میانگین تعداد نورون‌های سالم سلول‌های پورکنژ قشر مخچه در موش‌های دریافت‌کننده‌ی ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید، بیشتر از گروه‌های دریافت‌کننده‌ی ۲۵۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود ($P < 0/001$). اختلاف دو گروه دریافت‌کننده‌ی ۲۵۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید، از این نظر معنی‌دار نبود. میانگین تعداد نورون‌های سالم سلول‌های پورکنژ در گروه صرعی شده که سرم فیزیولوژی می‌گرفتند، به صورت معنی‌داری کمتر از گروه سالم بود. تغییرات مورفولوژی، مانند متراکم شدن هسته، مشخص نبودن محدوده‌ی هسته از سیتوپلاسم و اسیدوفیلی زیاد سلول‌های پورکنژ قشر مخچه، در گروه که پنتلین ترازول دریافت می‌کردند، نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی آبی شوید، بیشتر مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: مطالعه‌ی حاضر نشان داد که احتمال دارد، عصاره‌ی آبی شوید تا حد زیادی بتواند اثرات پنتلین ترازول را بر روی سلول‌های پورکنژ قشر مخچه‌ی موش‌های سوری صرعی شده کاهش دهد.

واژگان کلیدی: پورکنژ، مخچه، عصاره‌ی شوید، پنتلین ترازول، موش سوری

ارجاع: گل محمدی رحیم، زرگریان سید مهدی. تأثیر عصاره‌ی آبی شوید (*Anethum graveolens*) بر تعداد و ساختار سلول‌های

پورکنژ قشر مخچه در موش سوری صرعی شده. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۹): ۲۴۲۰-۲۴۱۱

اصلی در تونسیته‌ی عضلانی، تعادل، کنترل هیجان‌ات و اعمال ظریف و دقیق در بدن به عهده دارد (۱).

مقدمه

مخچه، ناحیه‌ی مهمی از مغز خلفی است، که نقش

۱- دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

۲- مربی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

Email: rahimgolmohammadi@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر رحیم گل محمدی

آکسون سلول‌های پورکنژ قشر مخچه، بخشی مهمی از راه خروجی مخچه را به خود اختصاص می‌دهند، که در فرآینده تنظیم حرکتی نقش فعال دارد (۲). از طرفی، صرع یکی از بیماری‌های مهم سیستم عصبی مرکزی می‌باشد، که هنوز درمان قطعی برای آن شناخته نشده است؛ هر چند که داروهای فعلی تا حدودی تشنجات ناشی از صرع را کنترل می‌کنند (۳).

یکی از روش‌های مطالعه‌ی صرع، ایجاد تشنج از طریق مدل‌های رایج کیندلینگ شیمیایی است که توسط پنتلین تترازول در حیوانات آزمایشگاهی انجام می‌شود (۴). آسیب و مرگ نورونی، یکی از ضایعات ایجاد شده در صرع‌زایی و مغز بیماران مبتلا به صرع است (۵).

کنترل بیماران مبتلا به صرع با داروهای شیمیایی، مانند والپریک اسید، در درازمدت عوارض جانبی دارد (۶). از طرفی، این داروها فقط در حدود ۴۰ درصد موارد تشنج را از بین می‌برد و در بقیه‌ی موارد، فقط فراوانی وقوع تشنج‌ها را کم می‌کند (۷). همچنین، نوشیدنی الکلی در حیوانات صرعی شده‌ی تحت درمان با والپریک اسید، نه تنها به نورون‌های عصبی، که به عروق کوچک در سیستم عصبی مرکزی نیز آسیب می‌رساند (۸). گزارش‌های Galic و همکاران نشان می‌دهد که تشنج و التهاب ناشی از پنتلین تترازول (PTZ یا Pentylenerazol) می‌تواند موجب ضایعات نورونی شود (۹).

استفاده از گیاهان دارویی به جای داروهای شیمیایی، به خاطر داشتن عوارض جانبی کمتر و تداخل کمتر با واکنش‌های زیستی بدن، برای کنترل صرع مفید به نظر می‌رسد. از جمله گیاهان دارویی که می‌تواند در اعمال مختلف بدن نقش مؤثر داشته

باشد، عصاره‌ی گیاه شوید قابل ذکر است (۱۰). مطالعه‌ی سترکی و همکاران، که بر روی خرگوش‌ها انجام شده است، نشان می‌دهد که عصاره‌ی آبی گیاه شوید، به طور معنی‌داری عوامل خطرسازی نظیر کلسترول و لیپوپروتئین‌های با چگالی کم (Low-density lipoprotein) را نسبت به گروه شاهد کاهش می‌دهد (۱۱). Chen و همکاران نیز بیان کردند که روغن دانه‌ی گیاه شوید دارای اثرات ضد قارچ است و از طریق فعال کردن آنتی‌اکسیدان‌های داخل سلولی، منجر به توقف رشد کاندید آلبیکانس می‌شود (۱۲). مطالعه‌ی منصور و همکاران نیز حاکی از آن بود که مصرف عصاره‌ی شوید در بیماران با سندرم متابولیک، به طور معنی‌داری موجب کاهش غلظت تری‌گلیسرید می‌گردد (۱۳).

مطالعه‌ی Park و همکاران نشان می‌دهد که کانال‌های کلسیمی سلول‌های پورکنژ مخچه، نسبت به تشنج حساس است (۱۴). گزارش Kalume و همکاران نیز حاکی از آن بود که انقباضات شدید میوکلونیک در نوزادان صرعی شده‌ی موش، موجب کاهش سلول‌های پورکنژ مخچه می‌شود (۱۵). مطالعات جدید نشان داده است که عصاره‌ی آبی-الکلی شوید، شروع انقباضات تونیک و میوکلونیک را در موش‌های بالغ نر صرعی شده توسط پنتلین تترازول به تأخیر می‌اندازد (۱۶).

این مطالعه، طراحی شد تا اثرات عصاره‌ی آبی شوید بر ساختار و تعداد سلول‌های سالم پورکنژ قشر مخچه‌ی موش سوری صرعی شده با پنتلین تترازول بررسی گردد؛ چرا که، مطالعه‌ی مدونی در این مورد مشاهده نکردیم.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی، موش‌های سوری ۳۰-۲۵ گرمی به صورت تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. برای صرعی کردن موش، پنتیلین تترازول با دوز ۴۰ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم وزن حیوان به صورت داخل صفاقی در ۱۲ دوز هر ۴۸ ساعت ۱ بار، تزریق شد. زمانی که هر حیوان ۳ تا ۴ بار مرحله ۵ تشنج را نشان موش کیندل شده نام دارد (۱۷).

برای تهیه‌ی عصاره‌ی گیاه شوید (*Anethum graveolens*)، ابتدا، گیاه خشک و سپس، توسط دستگاه خرد کننده، آسیاب و پودر شد. در ادامه، دو برابر وزن پودر گیاه شوید، آب مقطر استریل به آن اضافه شد و پس از یک هفته خیساندن، با استفاده از پارچه و قیف Büchner، عصاره‌ی حاصل، صاف گردید و به پلیت‌ها منتقل شد. سپس، به مدت ۴۸ ساعت، در داخل بن‌ماری در دمای ۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت تا عصاره، خشک شود؛ توضیح این که، در پایان عصاره‌گیری، محلول تهیه شده اتوکلاوه شد.

برای تهیه‌ی دوز معین عصاره‌ی شوید، از نرمال‌سالین استریل استفاده و حجم تزریق ۱۰ میلی‌لیتر، به ازای یک کیلوگرم وزن حیوان، تهیه شد. در سه گروه، هر موش سوری، بر اساس وزن خود، عصاره‌ی حل شده با دوز ۲۵۰، ۵۰۰ و یا ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت سه هفته (۲۱ دور) به صورت داخل صفاقی دریافت کرد؛ گروه چهارم، سرم فیزیولوژی و پنتیلین تترازول و گروه پنجم، شاهد (سالم)، سرم فیزیولوژی به تنهایی دریافت کردند (۱۸، ۱۵).

موش‌های سوری، پس از گذراندن دوره‌ی درمان،

با اثر بیهوش شدند و پس از پرفیوژن سرم فیزیولوژی و فرمالدئید، مخچه‌ی حیوان با دقت خارج و در داخل محلول فیکساتیو، قرار داده شد. پس از پاساژ بافتی، مقطع‌گیری کروئال و سریال از مخچه، به صورت تصادفی، با استفاده از میکروتوم انجام و اسلایدها با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شد. با میکروسکوپ نوری Motic (ساخت چین) و استفاده از نرم‌افزار Advanced motic plus-2 با بزرگ‌نمایی 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، شمارش نوروئ‌های سالم پورکنژ توسط دو نفر به صورت مجزا از یکدیگر (دو سوکور)، در ابعاد ۸ × ۸ میلی‌متر مربع شمارش و ثبت شد (۸).

جهت بررسی ایمنو‌هیستوشیمیایی، پس از مقطع‌گیری ۵ میکرونی از ناحیه‌ی قشر مخچه با میکروتوم، بر روی محدودی از لام‌ها با استفاده از روش معمول Avidin-Biotin-Peroxidase، رنگ‌آمیزی اختصاصی انجام شد. مراحل انجام کار، دما و غلظت‌های آنتی‌بادی بر طبق دستور کیت (Roche، آلمان) انجام گرفت؛ بدین ترتیب که، پس از پارافین زدایی نمونه‌ها با گزبلل، ماسک زدایی محل شاخص‌های آنتی‌ژنیک با میکروویو و بافر سیترات انجام شد. برای مهار فعالیت اندوژناز، پراکسیداز به مدت ۳۰ دقیقه در محلول ۳ درصد آب اکسیژنه قرار گرفت و بار دیگر، با بافر فسفات سالین، لام‌ها شستشو داده شد. سپس، با آنتی‌بادی Biotinylated (Anti-rabbit Cleaved Caspase-3) روی لام‌ها چکانده شد. از استرپتوآویدین متصل به HRP (Horseradish peroxidase)، که قادر است دی‌آمینو

بنزیدین (DAB یا Diaminobenzidine) را اکسید کند، برای رنگ‌آمیزی هسته‌ی سلول استفاده شد و با میکروسکوپ نوری، بررسی و تصویربرداری انجام گرفت (۱۹).

داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون‌های Dunnett، برای مقایسه‌ی میانگین گروه‌های تجربی با شاهد و Duncan، با ضریب آلفای ۰/۰۵، برای مقایسه‌ی میانگین داخل گروه‌های تجربی، تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

الف. یافته‌های بافتی شمارش نورون سالم پورکنژ:

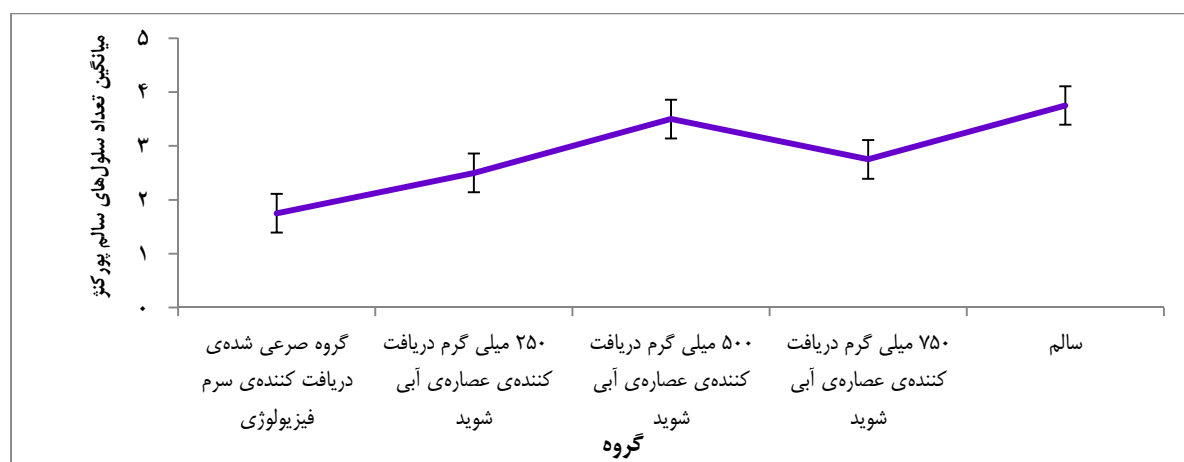
میانگین تعداد سلول‌های سالم پورکنژ قشر مخچه در موش‌های سوری صرعی شده با پنتلین تترازول، که ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید دریافت کردند، به نحو معنی‌داری بیشتر از گروه‌های دریافت کننده‌ی ۲۵۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود ($P < ۰/۰۰۱$). بین تعداد سلول‌های سالم پورکنژ قشر مخچه‌ی گروه‌های دریافت کننده‌ی ۲۵۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید، اختلاف معنی‌داری دیده نشد؛ ولی، این میانگین در گروه صرعی شده‌ی دریافت کننده‌ی سرم فیزیولوژی، به شکل معنی‌داری کمتر از گروه سالم بود ($P < ۰/۰۰۱$) (جدول ۱ و شکل ۱).

جدول ۱. مقایسه‌ی تعداد سلول‌های سالم پورکنژ قشر مخچه موش‌های سوری در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	تعداد نورون‌های سالم	حد بالا	حد پایین	میانگین \pm انحراف معیار
پنتلین تترازول و سرم فیزیولوژی*	۱/۹۸۶۰	۱/۴۶۴۰	۱/۷۲۵۰ \pm ۰/۸۱۶۱	
۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید	۲/۷۸۲۲	۲/۱۶۷۸	۲/۴۷۵۰ \pm ۰/۹۶۰۴۴	
۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید**	۳/۹۱۴۹	۳/۱۳۵۱	۳/۵۲۵۰ \pm ۱/۲۱۹۲۴	
۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید	۳/۰۷۹۹	۲/۴۲۰۱	۲/۷۵۰۰ \pm ۱/۰۳۱۵۵	
سرم فیزیولوژی (سالم)*	۴/۴۰۲۰	۳/۴۹۸۰	۳/۹۵۰۰ \pm ۱/۴۱۳۳۱	

* اختلاف معنی‌دار بین گروه پنتلین تترازول و سرم فیزیولوژی و گروه سالم در سطح $P < ۰/۰۰۱$

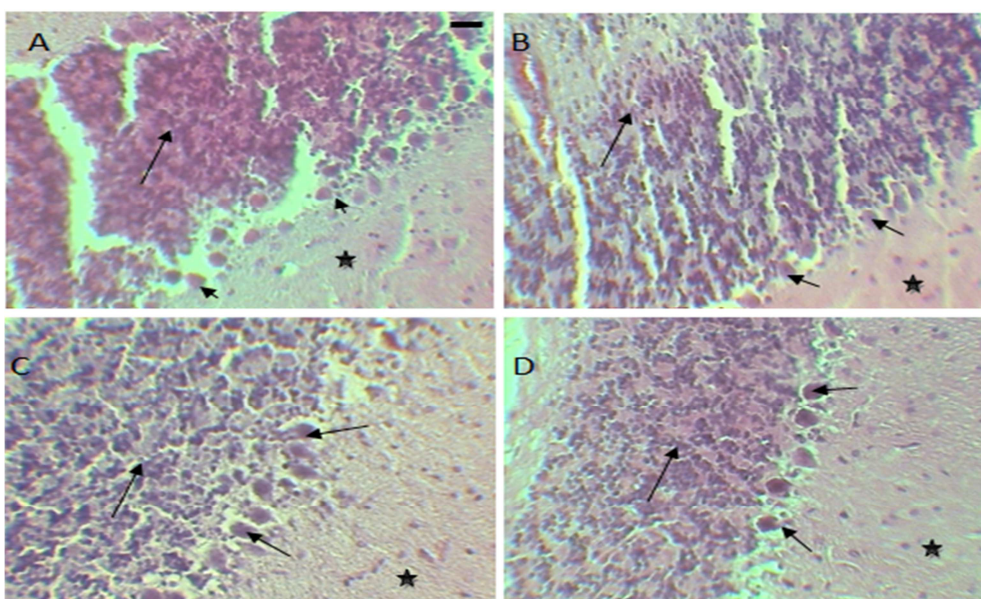
** اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت کننده‌ی ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید با گروه‌های دریافت کننده‌ی ۲۵۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سطح $P < ۰/۰۰۱$



شکل ۱. نمودار میانگین تعداد سلول‌های سالم پورکنژ در گروه‌های مورد مطالعه

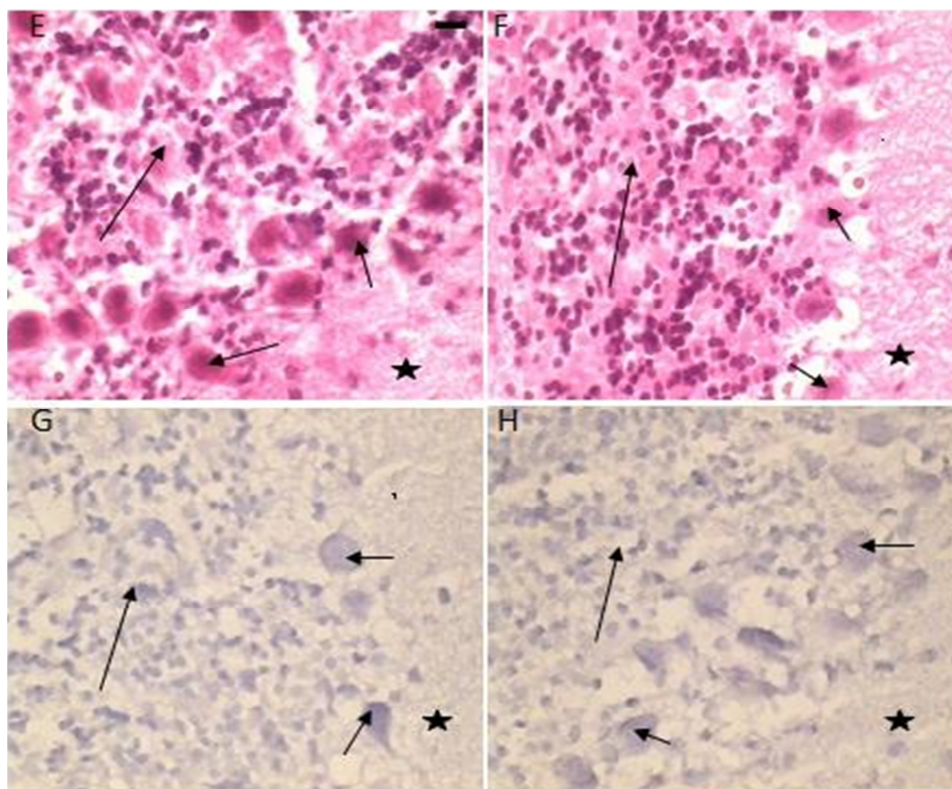
و نرمال سالیین نسبت به گروه‌هی دریافت کننده‌ی عصاره‌ی آبی شوید نیز بیشتر مشاهده شد؛ که نشان‌دهنده‌ی احتمال مرگ فیزیولوژیک سلول‌های پورکنژ قشر مخچه در اثر پنتلین تترازول می‌باشد. کم‌ترین تغییرات مورفولوژیک، یعنی کاهش اسیدوفیلی سیتوپلاسم و کاهش متراکم شدن هسته‌ی سلول‌های پورکنژ قشر مخچه، در گروه‌ی از موش‌های سوری دید شد که دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید را دریافت می‌کردند. در موش‌های دریافت کننده‌ی دوزهای ۲۵۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، اسیدوفیلی و مشخص نبودن محدوده‌ی هسته از سیتوپلاسم، بیشتر از گروه دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (شکل‌های ۲ و ۳).

ب. یافته‌های مورفولوژی و ایمونوهیستوشیمی سلول‌های پورکنژ: تغییرات مورفولوژی، مانند متراکم شدن هسته، مشخص نبودن محدوده‌ی هسته از سیتوپلاسم و اسیدوفیلی زیاد در گروه دریافت کننده‌ی پنتلین تترازول و نرمال سالیین، نسبت به گروه‌های دریافت کننده‌ی عصاره‌ی آبی شوید، بیشتر مشاهده شد. همچنین، تغییر در موقعیت مکانی هسته‌ی نوروهای پورکنژ قشر مخچه از مرکز به محیط، چروکیده شدن و نیز تغییر شکل غشای سیتوپلاسمی، در گروه دریافت کننده‌ی پنتلین تترازول و نرمال سالیین در مقایسه با گروه سالم، بیشتر مشاهده شد. این تغییرات در گروه دریافت کننده‌ی پنتلین تترازول



شکل ۲. مقطع ۵ میکرونی کرونال از قشر مخچه موش‌های سوری که پنتلین تترازول و دوزهای متفاوتی از عصاره‌ی آبی شوید دریافت کردند (بزرگ‌نمایی ۴۰۰×).

A. پیکان‌های کوچک، متراکم شدن هسته در سلول‌های پورکنژ مخچه و اسیدوفیلی سلول‌های لایه‌ی گرانولار را در گروه دریافت کننده‌ی پنتلین تترازول نشان می‌دهد؛ B. مقطع عرضی از قشر مخچه‌ی گروه شاهد؛ C. پیکان‌های کوچک، کم شدن اسیدوفیلی و کاهش متراکم شدن هسته‌ی سلول‌های پورکنژ در گروه دریافت کننده‌ی ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید را نشان می‌دهد؛ D. ستاره‌ها، لایه‌ی مولکولار و پیکان‌های بلند، لایه‌ی گرانولار سلول‌های پورکنژ در گروه دریافت کننده‌ی ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید را نشان می‌دهد.



شکل ۳. مقطع ۵ میکرونی کروئال از قشر مخچه‌ی موش‌های سوری (بزرگ‌نمایی ۴۰۰×)

E. پیکان‌های کوچک، اسیدوفیلی سیتوپلاسم و متراکم شدن هسته در سلول‌های پورکنژ گروه دریافت‌کننده‌ی ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید را نشان می‌دهد. F. گروه دریافت‌کننده‌ی ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید. G. قشر مخچه‌ی گروه دریافت‌کننده‌ی ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید در رنگ آمیزی Caspase-3؛ H. ستاره، لایه‌ی مولکولار و پیکان بلند، لایه‌ی گرانولار قشر مخچه در گروه دریافت‌کننده‌ی ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید در رنگ آمیزی Caspase-3 را نشان می‌دهد.

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، به طور معنی‌داری، افزایش میانگین تعداد سلول‌های سالم پورکنژ قشر مخچه در موش‌های سوری صرعی شده، که عصاره‌ی آبی شوید می‌گرفتند، در مقایسه با گروهی که عصاره‌ی آبی شوید نمی‌گرفتند، مشاهده شد. مطالعه‌ی Seo و همکاران بر روی موش‌های صحرائی، که مغز آن‌ها دچار ضایعه‌ی تروماتیک شده بود، نشان داد که ورزش، در افزایش بقای نورون‌های پورکنژ قشر مخچه نقش دارد (۲۰). نتایج تحقیق حاضر، با

مطالعه‌ی فوق هم‌خوانی دارد؛ هر چند که روش مطالعه‌ی حاضر، متفاوت است. در مطالعه‌ی ما، اثرات عصاره‌ی آبی شوید بر روی سلول‌های پورکنژ قشر مخچه‌ی موش‌های سوری صرعی شده، بررسی شد، در حالی که، Seo و همکاران، اثرات تمرینات ورزشی بر روی موش‌های دچار ضایعه‌ی تروماتیک را بررسی کردند.

افزایش بقای نورون‌های پورکنژ موجب بهبودی عملکرد حرکتی و حسی می‌شود. تحقیق کریم زاده و همکاران نشان داد که پنتلین ترازول در موش

موش‌های صرعی شده با پنتلین تترازول به تأخیر می‌اندازد (۱۸).

در مطالعه‌ی حاضر، میانگین تعداد سلول‌های سالم پورکنژ قشر مخچه، موش‌های دریافت‌کننده‌ی دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی شوید، بیشتر از گروه‌های دریافت‌کننده‌ی ۲۵۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. بنابراین، می‌توان گفت که دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای کاهش اثرات پنتلین تترازول بر روی سلول‌های پورکنژ قشر مخچه لازم است.

گزارشی جدید نشان می‌دهد، که عصاره‌ی دانه‌ی شوید (*Anethum graveolens*) بر روی تمام مغز اثر می‌گذارد و از طریق ۵- هیدروکسی‌تریپتامین (5-hydroxytryptamin)، موجب کاهش اشتها و کاهش وزن در موش‌های صحرایی چاق (*Obese rat*) می‌شود (۲۳). این مطالعه، از دو جنبه در مقایسه با پژوهش حاضر، قابل بحث می‌باشد. اول این که، در مطالعه‌ی حاضر، اثر عصاره‌ی آبی شوید بر روی سلول‌های پورکنژ قشر مخچه در موش‌های صرعی شده بررسی شد؛ در حالی که، در پژوهش فوق، اثر عصاره‌ی شوید بر روی رفتار و اشتها در موش‌های صحرایی مطالعه شد. دوم این که، این دو مطالعه، اثرات مثبت مشابه عصاره‌ی شوید را در دو مکان متفاوت از مغز نشان می‌دهند.

مطالعات Lomoio و همکاران بر روی موش‌های نژاد ویستار نشان داد که تزریق پنتلین تترازول در موش‌هایی که مراحل تکاملی را می‌گذرانند، موجب کاهش تکثیر سلولی در لایه‌ی ژرمینال خارجی قشر مخچه و همچنین، کاهش سلول‌های پورکنژ می‌شود (۲۴)؛ مطالعه‌ی حاضر، با تحقیق فوق هم‌خوانی دارد.

صحرایی، موجب کاهش نورون‌های هیپوکامپ می‌شود؛ در حالی که، کنترل رژیم غذایی (*Periodic fasting*)، یک نقش محافظتی برای نورون‌ها (*Neroprotective*) در موش‌های صرعی شده دارد (۲۱).

نتایج مطالعه‌ی کاظمی هم نشان داد که عصاره‌ی روغن شوید، خاصیت ضد اکسیدانی و فعالیت ضد التهابی دارد؛ خاصیت ضد اکسیدانی ناشی از وجود *Limonene* و *Sabinene* در روغن و عصاره‌ی شوید است که نه تنها اثرات *Nitric oxide* (NO) را خنثی می‌کند، بلکه بیان و سنتز NO را نیز مهار می‌نماید (۲۲).

در مطالعه حاضر نیز تعداد سالم پورکنژ قشر مخچه در موش‌های صرعی که عصاره آبی شوید دریافت می‌کردند بیشتر از گروهی از موش‌های صرعی بود که سرم فیزیولوژی دریافت می‌کردند شاید افزایش میانگین وجود سلول‌های سالم در حیوانات صرعی شده‌ی دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی آبی شوید، ناشی از خاصیت ضد اکسیدانی و ضد التهابی عصاره‌ی شوید است. به طوری که، توانسته است تا حد زیادی، مضرات پنتلین تترازول را بر روی سلول‌های سالم پورکنژ قشر مخچه به تأخیر اندازد. با توجه به این که، سلول‌های پورکنژ قشر مخچه نقش اصلی را در تعادل سیستم حسی - حرکتی دارند، آسیب نورون‌ها در بیماران مبتلا به صرع می‌تواند موجب اختلال عملکردی بیشتر در آنان شود؛ عصاره‌ی آبی شوید توانسته است تا حد زیادی، فرآیند مرگ سلولی‌های پورکنژ در موش‌های صرعی شده را به تأخیر اندازد. مطالعه‌ی آرش و همکاران نیز نشان داد که عصاره‌ی آبی شوید، در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، مرحله‌ی دوم تشنج را در

می‌کند (۲۷).

گزارش مدونی در مور تأثیر عصاره‌ی آبی شوید بر روی سلول‌های پورکنژ قشر مخچه در موش‌های صرعی شده با پنتلین تترازول مشاهده نشد و این مطالعه، اولین گزارشی است که اثر عصاره‌ی آبی شوید بر روی این سلول‌ها را نشان می‌دهد؛ لذا، پیشنهاد می‌شود، مطالعات بیشتری در مورد اثر عصاره‌ی شوید بر روی سیستم عصبی مرکزی حیوانات صرعی شده انجام گردد.

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که احتمال می‌رود، عصاره‌ی آبی شوید تا حد زیادی بتواند، از اثرات پنتلین تترازول بر روی سلول‌های پورکنژ قشر مخچه‌ی موش‌های صرعی شده، بکاهد.

تشکر و قدردانی

از شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، به خاطر تصویب طرح به شماره‌ی ۳۹۲۰۱۰۱۳۰ و تأمین هزینه‌های طرح و از آقای دکتر رخشانی، به خاطر کمک در آنالیزهای آماری این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

هر چند، که روش‌های مورد استفاده در دو بررسی متفاوت است؛ در مطالعه‌ی حاضر، اثر پنتلین تترازول بر روی نورون‌های پورکنژ موش‌های بالغ سنجیده شد، در حالی که، در مطالعه‌ی آنان، اثر پنتلین تترازول بر روی فرآیند تکامل قشر مخچه بررسی شده بود.

در فرآیند مرگ سلول‌های دایمی (نورونی) که منجر به تشکیل اجسام آپوپتیک و تغییر موقعیت هسته در سلول می‌شود، فاکتورهای سلولی و مولکولی زیادی نقش دارند؛ به طوری که، چندین ژن فعال می‌شوند که یکی از مهم‌ترین آن‌ها، ژن P53 است (۲۵، ۸).

در مطالعه‌ی حاضر، کاهش تعداد نورون‌های سالم پورکنژ در موش‌های صرعی شده با پنتلین تترازول مشاهده شد، که می‌تواند ناشی از مضرات این ماده بر روی نورون‌های پورکنژ قشر مخچه باشد. کاهش تعداد نورون‌های سالم، به هر علتی که ایجاد شود، از نظر بالینی مهم است؛ چرا که، مقدمه‌ای بر افزایش بیماری‌های عصبی می‌باشد و منجر به کاهش عمر مفید در انسان می‌شود (۲۶).

استفاده از داروی والپریک اسید، که به منظور کنترل و درمان صرع به کار می‌رود، عوارضی مانند از دست دادن هوشیاری، دیس‌فاژی و هیپرمونومیا ایجاد

References

1. Timmann D, Drepper J, Frings M, Maschke M, Richter S, Gerwig M, et al. The human cerebellum contributes to motor, emotional and cognitive associative learning. A review. *Cortex* 2010; 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; 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; 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. *Neurosci Lett* 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. *Adv Tech Stand Neurosurg* 2002; 27: 5-22.

6. Scorza FA, Arida RM, Cysneiros RM, Priel MR, de Albuquerque M, Cavalheiro EA. The effects of alcohol intake and withdrawal on the seizures frequency and hippocampal morphology in rats with epilepsy. *Neurosci Res* 2003; 47(3): 323-8.
7. Fischer W, Kittner H. Influence of ethanol on the pentylenetetrazol-induced kindling in rats. *J Neural Transm* 1998; 105(10-12): 1129-42.
8. 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): 1125-31.
9. Galic MA, Riazzi K, Heida JG, Mouihate A, Fournier NM, Spencer SJ, et al. Postnatal inflammation increases seizure susceptibility in adult rats. *J Neurosci* 2008; 28(27): 6904-13.
10. Yazdanparast R, Bahramikia S. Evaluation of the effect of *Anethum graveolens* L. crude extracts on serum lipids and lipoproteins profiles in hypercholesterolaemic rats. *DARU J Pharm Sci* 2008; 16(2): 88-94.
11. Setorki M, Rafieian-Kopaei M, Merikhi A, Heidarian E, Shahinfard N, Ansari R, et al. Suppressive impact of *Anethum graveolens* consumption on biochemical risk factors of atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *Int J Prev Med* 2013; 4(8): 889-95.
12. Chen Y, Zeng H, Tian J, Ban X, Ma B, Wang Y. Antifungal mechanism of essential oil from *Anethum graveolens* seeds against *Candida albicans*. *J Med Microbiol* 2013; 62(Pt 8): 1175-83.
13. Mansouri M, Nayebi N, Keshtkar A, Hasani-Ranjbar S, Taheri E, Larijani B. The effect of 12 weeks *Anethum graveolens* (dill) on metabolic markers in patients with metabolic syndrome; a randomized double blind controlled trial. *Daru* 2012; 20(1): 47.
14. Park SK, Hwang IK, An SJ, Won MH, Kang TC. Elevated P/Q type ($\alpha 1A$) and L2 type ($\alpha 1D$) 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): 11065-74.
16. Rostampour M, Ghaffari A, Salehi P, Saadat F. Effects of Hydro-alcoholic Extract of *Anethum Graveolens* Seed on Pentylenetetrazol-induced Seizure in Adult Male Mice. *Basic Clin Neurosci* 2014; 5(3): 199-204.
17. Barkai E, Grossman Y, Gutnick MJ. Long-term changes in neocortical activity after chemical kindling with systemic pentylenetetrazole: an in vitro study. *J Neurophysiol* 1994; 72(1): 72-83.
18. Arash A, Mohammad MZ, Jamal MS, Mohammad TA, Azam A. Effects of the Aqueous Extract of *Anethum graveolens* Leaves on Seizure Induced by Pentylenetetrazole in Mice. *Malays J Med Sci* 2013; 20(5): 23-30.
19. 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.
20. Seo TB, Kim BK, Ko IG, Kim DH, Shin MS, Kim CJ, et al. Effect of treadmill exercise on Purkinje cell loss and astrocytic reaction in the cerebellum after traumatic brain injury. *Neurosci Lett* 2010; 481(3): 178-82.
21. Karimzadeh F, Jafarian M, Gharakhani M, Razeghi JS, Mohamadzadeh E, Khallaghi B, et al. Behavioural and histopathological assessment of the effects of periodic fasting on pentylenetetrazol-induced seizures in rats. *Nutr Neurosci* 2013; 16(4): 147-52.
22. Kazemi M. Phenolic profile, antioxidant capacity and anti-inflammatory activity of *Anethum graveolens* L. essential oil. *Nat Prod Res* 2015; 29(6): 551-3.
23. Bano F, Ahmed A, Ahmed M, Parveen T. *Anethum graveolens* seeds aqueous extract stimulates whole brain 5-hydroxytryptamine metabolism and reduces feeding behavior and body weight in obese rats. *Pak J Pharm Sci* 2015; 28(1): 221-5.
24. Lomoio S, Necchi D, Mares V, Scherini E. A single episode of neonatal seizures alters the cerebellum of immature rats. *Epilepsy Res* 2011; 93(1): 17-24.
25. 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.
26. 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): 124-9.
27. Tseng YL, Huang CR, Lin CH, Lu YT, Lu CH, Chen NC, et al. Risk factors of hyperammonemia in patients with epilepsy under valproic acid therapy. *Medicine (Baltimore)* 2014; 93(11): e66.

The Effect of Anethum Graveolens Extract on Structure and Number of Purkinje Cells of Cerebellum in Epileptic Mice

Rahim Golmohammadi PhD¹, Mahdi Zargarian PhD²

Original Article

Abstract

Background: Cerebellum has the main role in balance and muscular tonicity. In the present study, the effect of aqueous Anethum graveolens extract on histological structure and number of Purkinje cells was investigated in epileptic mice.

Methods: In this experimental study, 50 mice randomly divided in 5 groups of 10. 4 groups became epileptic by injecting 12 doses of 40 mg/kg pentylentetrazol during 24 days. Three groups received intraperitoneally the aqueous Anethum graveolens with doses of 250, 500 and 750 mg/kg. The fourth group received pentylentetrazol and normal saline and the fifth, only received normal saline. After the treatment period, cerebellum was dissected out. After histological passage and coronal cross-sectioning, hematoxyline-eosin staining was done and 40 fields were randomly selected and counted for normal neurons on Purkinje cells. Immunohistochemical method was used to detect morphological changes. Data were analyzed using ANOVA test.

Findings: The mean number of normal neurons in mice received 500 mg/kg of aqueous extract of Anethum graveolens increased significantly more than the groups of 250 and 750 mg/kg ($P < 0.001$); this difference was not significant between the groups which received 250 and 750 mg/kg of extract. The mean number of normal neurons of Purkinje cell was significantly lower in the group of normal and pentylentetrazol compared to control group. Different morphological changes as such as increased density of the nucleus and increased acidophilic cytoplasm of Purkinje cells were more in pentylentetrazol group compared to the groups received the aqueous of Anethum graveolens.

Conclusion: Our result showed that the aqueous of Anethum graveolens can probably decrease the neurotoxic of the effect pentylentetrazol on structural neurons of Purkinje cells in epileptic mice.

Keywords: Anethum graveolens, Purkinje cells, Cerebellum, Pentylentetrazol, Mice

Citation: 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 Sch 2015; 32(319): 2411-20

1- Associate Professor, Department of Anatomy, School of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

2- Instructor, Department of Medical Laboratory, School of Paramedical Sciences, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

Corresponding Author: Rahim Golmohammadi PhD, Email: rahimgolmohammadi@yahoo.com