

The Histopathological Evaluation of Gallic Acid on Rat Purkinje Cells after Trimethyltin Intoxication

Lida Doroodi^{1,2}, Mohammad Amin Edalatmanesh^{2*}

¹Department of Physiology, College of Sciences, Fars Science and Research Branch, Islamic Azad University, Fars, Iran

²Department of Physiology, College of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Article Info:

Received: 25 Nov 2016

Revised: 12 Dec 2016

Accepted: 29 Dec 2016

ABSTRACT

Introduction: Multiple studies have been shown neuroprotective effect of Gallic acid (GA) as a potent anti-oxidant substance. Furthermore, Trimethyltin (TMT) is a methylated organotin compound which induces neuronal degeneration in the brain of human and rodents. This study examined the effects of GA on wet weight of the cerebellum, cerebellum to total brain weight ratio, and purkinje cells number in lobule IV, V, and VI in the brain of TMT-intoxicated rats.

Materials and Methods: Fifty adult male sprague dawley rats were divided into five groups; control, TMT+Saline group received saline after TMT (8 mg/Kg/BW) intoxication as well as TMT+GA50, TMT+GA100 and TMT+GA200 groups. Animals received GA 50, 100 and 200 mg/Kg body weight seven days before and seven days after administration of TMT. Finally, through transcardial perfusion, the rats were sacrificed and the weight of total brain and cerebellum was measured and then histopathological analyses were conducted. **Results:** The wet weight of cerebellum were significantly decreased in TMT+Saline group compared to controls and increased in GA-treated rats compared to TMT+Saline group. However, the average cerebellar to total brain weight ratio was not differed in different groups. The number of Purkinje cells in the specific folia was significantly increased in the GA-treated rats in comparison to that of the TMT+Saline group. **Conclusion:** Our data indicate that GA reduced TMT toxicity and associated cerebellar damages possibly via its antioxidant and neuroprotective properties.

Key words:

1. Cerebellum
2. Organotin Compounds
3. Polyphenols

*Corresponding Author: Mohammad Amin Edalatmanesh

E-mail: amin.edalatmanesh@gmail.com

بررسی هیستوپاتولوژیک گالیک اسید بر سلول‌های پورکینز موش صحرائی متعاقب مسمومیت با تری متیل تین

لیدا درودی^{۱،۲}، محمد امین عدالت منش^{۳*}

^۱گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم، واحد علوم و تحقیقات فارس، دانشگاه آزاد اسلامی، فارس، ایران

^۲گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۹ دی ۱۳۹۵

اصلاحیه: ۲۲ آذر ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۵ آذر ۱۳۹۵

چکیده

مقدمه: مطالعات متعدد نقش حمایت کننده عصبی گالیک اسید را به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی نشان داده است. از طرف دیگر، تری متیل تین یک ترکیب ارگانوتین متیله شده است که دژنراسیون نورونی در مغز انسان و جوندگان را القاء می‌کند. این مطالعه اثرات گالیک اسید بر وزن مرطوب مخچه، نسبت وزن مخچه به کل مغز و تعداد سلول‌های پورکینز در فولیای IV، V و VI در مغز موش‌های صحرائی مسموم شده با تری متیل تین را مورد بررسی قرار داد. **مواد و روش‌ها:** ۵۰ موش صحرائی نر بالغ نژاد اسپراگ داوولی به پنج گروه تقسیم شدند: کنترل، گروه TMT+Saline دریافت کننده سالین بعد از مسمومیت با TMT (۸ میلی‌گرم/کیلوگرم/وزن بدن) و همچنین گروه‌های TMT+GA۵۰، TMT+GA۱۰۰ و TMT+GA۲۰۰. حیوانات ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن گالیک اسید را ۷ روز قبل و ۷ روز بعد از تجویز تری متیل تین دریافت نمودند. سرانجام از طریق پرفیوژن قلبی موش‌های صحرائی کشته شدند و وزن کل مغز و مخچه اندازه‌گیری شد و سپس تجزیه و تحلیل آسیب‌شناسی انجام شد. **یافته‌ها:** وزن مرطوب مخچه به طور معنی‌داری در گروه TMT+Saline در مقایسه با کنترل کاهش یافت و در موش‌های صحرائی درمان شده با گالیک اسید در مقایسه با گروه TMT+Saline افزایش داشت. با این حال نسبت وزن میانگین مخچه به کل مغز در گروه‌های مختلف، متفاوت نبود. تعداد سلول‌های پورکینز در فولیای خاص در موش‌های صحرائی درمان شده با گالیک اسید در مقایسه با گروه TMT+Saline به طور معنی‌داری افزایش یافت. **نتیجه‌گیری:** داده‌های ما نشان داد که گالیک اسید سمیت TMT را کاهش داده است و احتمالاً از طریق ویژگی‌های آنتی اکسیدانی و حفاظت عصبی با آسیب‌های مخچه در ارتباط بوده است.

کلید واژه‌ها:

۱. مخچه
۲. ترکیبات ارگانوتینی
۳. پلی فنول‌ها

* نویسنده مسئول: محمد امین عدالت منش

آدرس الکترونیکی: amin.edalatmanesh@gmail.com

مقدمه

پاسخ گیرنده گلوتاماتی NMDA، سبب تقویت اثر اکسیداتیو و تسریع مرگ نورونی ناشی از تری متیل تین می‌گردد (۱۱). در حضور TMT، سطح نیتریک اکساید افزایش یافته و می‌تواند با آنیون‌های سوپر اکسید واکنش دهد و باعث تولید آنیون‌های سمی پراکسی نیترات گردد. این شرایط اکسیداتیو می‌تواند با تولید H_2O_2 سبب تخریب نورونی شود (۱۲). به طور کلی با این ارگانوتین می‌توان وقایعی مانند استرس اکسیداتیو، واکنش‌های التهابی، مرگ و بقای سلولی را در مطالعات تجربی بررسی نمود. هر چند اثر تری متیل تین بر سلول‌های پورکینز مخچه مورد بررسی دقیق قرار نگرفته است با این حال در سال ۱۹۸۵ مطالعه اثر تری متیل تین بر میمون‌های ماکاک نشان از دژنراسیون خفیف در سلول‌های پورکینز داشت (۱۳) و در مطالعه دیگری مرگ سلول‌های پورکینز در نتیجه مسمومیت با تری متیل تین دیده نشد (۱۴).

با توجه به نقش کلیدی آنتی اکسیدان‌ها به‌عنوان عامل دفاعی بدن علیه رادیکال‌های آزاد، استفاده از این ترکیبات امروزه اهمیت قابل توجهی در درمان اختلالات ناشی از استرس اکسیداتیو دارند (۱۵) اسیدگالیک، یک آنتی‌اکسیدان قوی است که دارای فعالیت‌های ضد جهش‌زایی و ضد سرطان می‌باشد. تأثیرات حفاظتی عصبی بسیاری از پلی فنول‌ها از جمله اسیدگالیک بر توانایی آن‌ها در نفوذ به سد خونی-مغزی تکیه می‌کنند (۱۶). اسید گالیک، از طریق مهار فعالیت تیروزین کینازی، فعالیت‌های ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد التهابی و آنتی اکسیدانی خود را اعمال می‌کند (۱۷). همچنین، اسید گالیک با کاهش اثر کلسیم درون سلولی در هموستاز کلسیم نقش دارد و اثرات ضد التهابی و ضد آپوپتوزی دارد (۱۸). از این رو، مطالعه حاضر به بررسی اثر گالیک اسید به‌عنوان یک فاکتور حمایت کننده عصبی در مخچه به دنبال مسمومیت تری متیل تینی می‌پردازد.

در یک بررسی متا آنالیز از نقشه برداری عملکردی مخچه، بخش‌هایی از لوب عقبی مخچه مورد شناسایی قرار گرفته‌اند که در تکلم، عملکردهای شناختی یا فضایی نقش دارند و مستقل از بخش‌های حسی حرکتی سازماندهی شده‌اند (۱۹). آن‌ها، تمایز بین مخچه شناختی و حسی-حرکتی را نیز بیان کرده‌اند. به صورت ساده می‌توان گفت لوبول V و VI جزئی از مخچه حسی-حرکتی و لوبول VI و VII بخشی از مخچه شناختی محسوب می‌شود (۲۰). لوبول V و VI همجوار بوده و وظایفی چون حافظه کلامی-زبانی را نیز به عهده دارد (۲۰، ۴). از طرف دیگر، لوبول VI در پردازش فضایی، هیجانی و احساسی نقش دارد (۲۰). لذا با بررسی آسیب در لوبول‌های مورد بررسی

به نظر می‌رسد مخچه دارای عملکردهایی فراتر از تنظیم تعادل، حفظ تونوس عضلانی و هماهنگی اعمال حرکتی که از آن‌ها به‌عنوان اساسی‌ترین نقش‌های مخچه یاد می‌شده است، دارا باشد (۳-۱). مخچه در شناخت فضایی، تنظیم عملکردهای احساسی و زبانی نقش مؤثری دارد و بسیاری از نقص‌های بالقوه شناختی و تغییرات شخصیتی مانند شیذوفرنی، جنون و اوتیسم با آسیب‌های مخچه ارتباط تنگاتنگ دارند (۴).

سلول‌های پورکینز از ناحیه بطنی مخچه سرچشمه می‌گیرند (۵) و به صفحه مخچه‌ای و به لایه‌ای با ضخامت ۱۰-۶ سلول در مجاورت لایه گرانولی داخلی مهاجرت می‌کنند (۵). لایه سلولی پورکینز عمدتاً به‌عنوان یک ساختار همگن شناخته می‌شود (۶) و تنها نورون‌های وابران قشر مخچه می‌باشند. این سلول‌ها از طریق سیگنال‌های مهاری، فعالیت نورون‌ها را در هسته‌های عمقی مخچه تنظیم می‌کنند. بنابراین، اختلال در عملکرد این سلول‌ها منجر به اختلال در عملکرد مخچه می‌شود (۷). سلول‌های پورکینز مخچه نقش کلیدی را در فراگیری و اعمال حرکتی دارند (۶). قشر مخچه در یادگیری مهارت‌های حرکتی پیچیده دخیل است، این یادگیری ممکن است به بازسازی سیناپسی از ورودی‌های سلول‌های پورکینز نیاز داشته باشد (۸).

ارگانوتین تری متیل تین کلراید^۱ (C_3H_9ClSn) یک نوروتوکسین قوی است که در محصولات سیلیکونی و پلی ونیل کلراید مثل ظروف آشپزخانه، پاکت نگهداری مواد غذایی و قارچ‌کش‌ها وجود دارد (۹). این ارگانوتین آسیب انتخابی در سیستم عصبی مرکزی ایجاد می‌کند که به طور انتخابی باعث مرگ نورون‌ها در سیستم لیمبیک انسان و حیوان می‌شود (۱۰). تری متیل تین در مخچه باعث تخریب نورونی می‌شود و از آن به‌عنوان یک نوروتوکسین در مدل‌های تخریبی مغزی استفاده می‌شود (۱۱). هرچند، مطالعات مختلف به اثرات تحلیل عصبی^۲ گسترده این ارگانوتین در هیپوکامپ و سیستم لیمبیک اشاره دارند (۱۲) با این حال، سلول‌های گرانولی مخچه به دنبال مسمومیت با تری متیل تین دچار آپوپتوز می‌شوند و در غلظت‌های بالاتر، با خروج لاکتات دهیدروژناز از سلول‌های عصبی سبب نکرز سلولی می‌شود و در نهایت سبب مختل شدن واکنش‌های اکسیداتیو و غیر اکسیداتیو می‌گردد. نکرز شدن سلول‌های مخچه‌ای با واسطه گیرنده‌های گلوتاماتی به دنبال مسمومیت با تری متیل تین اتفاق می‌افتد (۱۰). سلول‌های مخچه تحت تأثیر این نوروتوکسین، ممکن است به دو مکانیسم متفاوت واکنش نشان دهند: یکی مکانیسم استرس اکسیداتیو با واسطه گیرنده‌های غیر NMDA و دیگری فعال شدن گیرنده گلوتاماتی NMDA.

¹ Trimethyltin chloride

² Neurodegeneration

میلی گرم/کیلوگرم) بیهوش و سپس پرفیوژن قلبی با استفاده از نرمال سالین و سپس ۳۰۰ میلی لیتر محلول گلوکارآلدئید ۱٪، پارافرمالدهید ۱٪ در بافر فسفات سالین ۰/۱ مولار (pH=۷/۴) انجام شد (۲۱). پس از اتمام پرفیوژن و خارج کردن مغز، مخچه با دقت از مغز جدا شد و با ترازوی حساس توزین شد. نمونه‌های مخچه به مدت ۲۴ ساعت در محلول پارافرمالدهید ۴٪ فیکس شدند و جهت مطالعات بافت‌شناسی با کمک دستگاه اتوتکنیکون پردازش بافتی شده و پس از تهیه بلوک‌های پارافینه، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه شد. آنگاه، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اُئوزین انجام شد و تصویربرداری‌های میکروسکوپی با میکروسکوپ نوری (Olympus-BH₂) انجام شد.

شمارش سلول‌های پورکینز

برش‌های ۵ میکرونی کورونال از مخچه هر یک از حیوانات در گروه‌های مختلف به طور سریالی آماده شده و با فاصله هر ۴ برش و با شروع تصادفی از مجموعه برش‌ها، یک اسلاید تهیه شد و به‌منظور شمارش سلول‌های پورکینز مورد استفاده قرار گرفت. پس از رنگ‌آمیزی اسلایدها با رنگ هماتوکسیلین-اُئوزین، از مجموع اسلایدهای تهیه شده، ۱۰ اسلاید به صورت تصادفی از هر نمونه مخچه در گروه‌های مختلف انتخاب شد (حداقل ۵۰ اسلاید به صورت تصادفی از هر گروه مورد شمارش قرار گرفت). لایه سلول‌های پورکینز در زیر میکروسکوپ تشخیص داده شدند و با استفاده از یک دوربین متصل به کامپیوتر از هر اسلاید عکسبرداری انجام شد. عکس‌ها بر روی مانیتور نمایش داده شده و سلول‌های پورکینز مخچه با بزرگنمایی ۴۰X شمارش شدند. شمارش‌ها از هر دو نیمکره مخچه و به تفکیک فولیای IV، V و VI و سپس کل مخچه انجام شد. تشخیص فولیای اختصاصی پس از تصویربرداری با مقایسه تصاویر به کمک اطلس پاکسینوس و واتسون صورت گرفت. میانگین سلول‌های پورکینز در هر دو نیمکره از مخچه در گروه‌های مختلف ثبت و مورد ارزیابی آماری قرار گرفت.

محاسبات آماری

تجزیه و تحلیل آماری بین گروه‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۲ انجام شد. توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. فرض طبیعی بودن توزیع داده‌ها اثبات شد ($P > 0/05$). همچنین، به‌منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مورد نظر آزمون بررسی واریانس یکطرفه بررسی و آزمون تعقیبی توکی انجام گردید. از نظر آماری مقادیر $P < 0/05$ ، معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

توزین مغز و مخچه و بررسی نسبت بین آن‌ها

در مطالعه حاضر می‌توان به ارتباط بین مسمومیت تری متیل تینی و اختلالات شناختی و حرکتی ناشی از آن در مخچه پی برد. چرا که علاوه بر آسیب سیستم لیمبیک، آسیب نواحی ویژه‌ای از مخچه که در عملکردهای شناختی نقش دارند در مدل مسمومیت تری متیل تینی می‌تواند دلیل نقص شناختی در این مدل را نشان دهد.

بنابراین، با توجه به نقش بالقوه فولیای IV، V و VI مخچه در شناخت و یادگیری و نقش کلیدی سلول‌های پورکینز در آن و نیز بررسی نقش احتمالی تری متیل تین بر آسیب‌های منطقه‌ای در مخچه، مطالعه حاضر به بررسی اثر تجویز گالیک اسید پیش از مسمومیت با تری متیل تین و پس از آن بر هیستوپاتولوژی مخچه و بررسی تعداد و تراکم سلول‌های پورکینز در فولیای IV، V و VI می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

حیوانات و گروه‌بندی

در مطالعه تجربی حاضر از ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگ داوولی، با محدوده وزنی 230 ± 15 گرم و سن تقریبی ۸ هفته استفاده شد. حیوانات در طول مدت آزمایش در شرایط استاندارد دمایی ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) و رطوبت (50 ± 10) و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته (۷ صبح تا ۷ عصر) نگهداری شدند. کلیه مراحل کار با حیوانات، طبق قوانین و ضوابط حمایت از حیوانات آزمایشگاهی و با نظارت و مجوز کمیته اخلاقی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز انجام شد. در مطالعه حاضر، موش‌های صحرایی در ۵ گروه ۱۰ تایی به تفکیک زیر تقسیم‌بندی شدند: گروه کنترل: حیوانات این گروه تحت هیچ نوع تیمار و تجویزی قرار نگرفتند. گروه TMT+Saline: حیوانات این گروه میزان ۸ میلی‌گرم/کیلوگرم تری متیل تین (سیگما، آلمان) را به صورت درون صفاقی دریافت نمودند، آنگاه هم‌زمان با تجویز گالیک اسید در گروه‌های تیمار، ۷ روز قبل از مسمومیت با تری متیل تین و ۷ روز پس از آن (به مدت ۱۴ روز) حلال گالیک اسید یعنی نرمال سالین به آن‌ها تجویز شد. گروه‌های TMT+GA100، TMT+GA50 و TMT+GA200: حیوانات این گروه‌ها پس از مسمومیت با تری متیل تین، به ترتیب میزان ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن حیوان اسید گالیک (سیگما، آلمان) را در مدت ۱۴ روز و روزانه یک تزریق دریافت کردند. تجویز گالیک اسید ۷ روز قبل از مسمومیت با تری متیل تین شروع و تا ۷ روز پس از آن ادامه داشت.

هیستولوژی

برای انجام مطالعات بافت‌شناسی، جداسازی و توزین مغز، حیوانات با مخلوطی از دو داروی کتامین هیدروکلراید (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۵

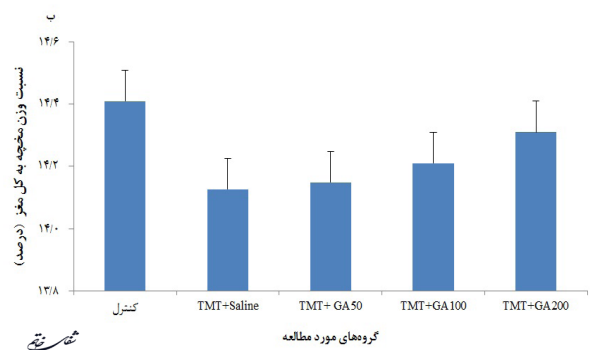
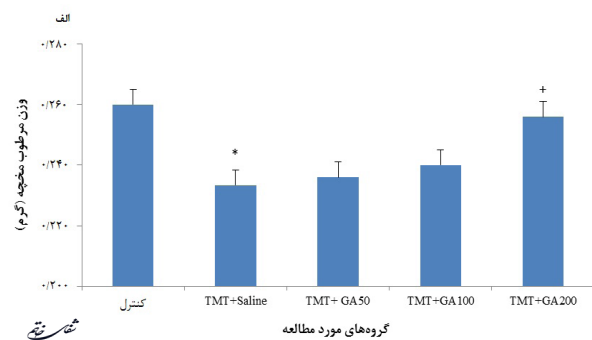
شمارش سلول‌های پورکینژ

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی نشان داد که مسمومیت با تری متیل تین سبب کاهش معنی‌دار تعداد سلول‌های پورکینژ در فولیاهای IV، V و VI مخچه نسبت به گروه کنترل می‌گردد. در مقایسه با گروه دریافت کننده حلال گالیک اسید (TMT+Saline)، گروه‌های دریافت کننده حلال گالیک اسید به صورت وابسته به دوز افزایش معنی‌داری را در تعداد سلول‌های پورکینژ در نواحی مختلف مخچه نشان دادند. شمارش توتال سلول‌های پورکینژ نیز اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های کنترل و گروه TMT+Saline را نشان داد. همچنین تعداد سلول‌های پورکینژ در ۱۵ برش مورد بررسی از نواحی مختلف مخچه به صورت کلی نیز افزایش تعداد کل سلول‌های پورکینژ را در گروه‌های دریافت کننده گالیک اسید نسبت به گروه TMT+Saline نشان داد. نتایج حاصل در جدول ۱ آورده شده است.

بررسی هیستوپاتولوژیک و میکروآناتومیک سلول‌های پورکینژ

مطالعه هیستوپاتولوژیک برش‌های به دست آمده از نواحی مختلف لایه سلولی پورکینژ نشان داد که علاوه بر کاهش تعداد نورون‌های رنگ‌آمیزی شده و هسته‌های رنگ گرفته در رنگ‌آمیزی هماتوکسین-اُوزین، تغییرات محسوسی نیز در ریخت‌شناسی سلولی به دنبال مسمومیت تری متیل تینی وجود دارد. پس از تیمار با تری متیل تین وجود هسته‌های آپوپتیک، استحال‌های نورونی و از بین رفتن غشاء و قطعه قطعه شدن هسته‌های سلول در نواحی مختلف لایه سلولی پورکینژ مشاهده گردید. همان‌گونه که در تصویر ۱ می‌بینید محو شدن هسته، تخریب غشای سیتوپلاسمی، متراکم شدن قطعات هسته‌ای و عدم رنگ‌پذیری سلولی در گروه TMT+Saline دیده می‌شود. از طرف دیگر، مرگ سلولی گسترده در لایه گرانولی این گروه در مقایسه با گروه کنترل و گروه TMT+GA200 دیده می‌شود.

نتایج حاصل از توزین مخچه (نمودار ۱-الف) نشان می‌دهد که وزن مخچه در گروه TMT+Saline (0.233 ± 0.02 گرم) کمتر از وزن آن در حیوانات گروه کنترل (0.26 ± 0.03 گرم) می‌باشد ($P < 0.05$). همچنین، افزایش معنی‌داری در وزن مرطوب مخچه بین گروه TMT+Saline و گروه TMT+GA200 (0.256 ± 0.02 گرم) دیده شد ($P < 0.05$). در دیگر گروه‌های دریافت کننده گالیک اسید (گروه TMT+GA50: 0.236 ± 0.02 گرم و گروه TMT+GA100: 0.24 ± 0.03 گرم) اختلاف معنی‌دار با گروه TMT+Saline مشاهده نشد. با این حال پس از توزین کل مغز و بررسی نسبت وزن مخچه به وزن کل مغز (نمودار ۱-ب) علی‌رغم وجود تفاوت، این اختلاف بین گروه‌های مختلف معنی‌دار نیست ($P > 0.05$).

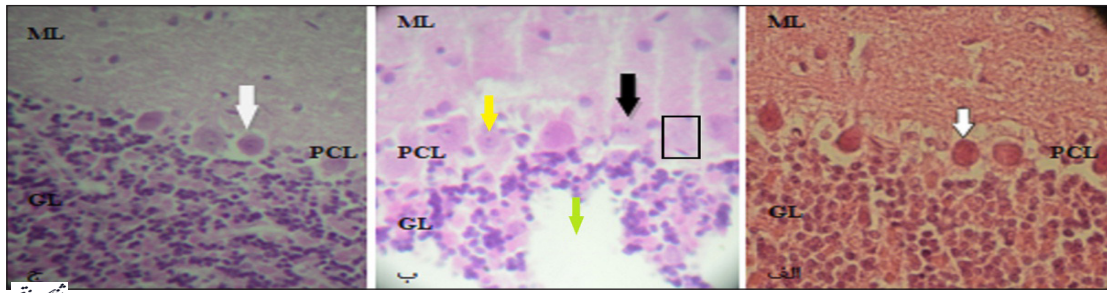


نمودار ۱- بررسی وزن مرطوب مخچه (الف) و نسبت وزن مخچه به کل مغز (ب) در گروه‌های مورد مطالعه. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده است. اختلاف معنی‌دار بین گروه TMT+Saline با گروه کنترل ($P < 0.05$) و نیز افزایش معنی‌دار در وزن مخچه گروه TMT+GA200 در مقایسه با گروه TMT+Saline ($P < 0.05$) دیده شد.

جدول ۱- میانگین تعداد سلول‌های پورکینژ در سه فولیای IV، V و VI مخچه و کل مخچه در گروه‌های مورد مطالعه. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده است. a. $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل، b. $P < 0.05$ در مقایسه با گروه TMT+Saline، c. $P < 0.05$ در مقایسه با گروه TMT+GA50، d. $P < 0.05$ در مقایسه با گروه TMT+GA100.

گروه	فولیوم IV	فولیوم V	فولیوم VI	کل مخچه
کنترل	$8/4 \pm 1/32$	$8/3 \pm 1/56$	$9/7 \pm 1/45$	$325/4 \pm 42/5$
TMT+Saline	$a 1/2 \pm 0/23$	$a 1/06 \pm 0/13$	$a 1/6 \pm 0/21$	$a 46/8 \pm 9/8$
TMT+GA50	$a 2/4 \pm 0/28$	$a 3/6 \pm 0/20$	$a 2/8 \pm 0/34$	$a 52/3 \pm 11/2$
TMT+GA100	$ab 3/8 \pm 0/30$	$ab 4/8 \pm 0/71$	$a 4/2 \pm 0/64$	$a 63/1 \pm 15/5$
TMT+GA200	$bcd 7/1 \pm 1/2$	$bcd 7/3 \pm 1/5$	$bcd 6/9 \pm 1/1$	$bcd 245/7 \pm 26/8$
سطح معنی‌داری	$0/001$	$0/009$	$0/005$	$0/0001$

مصرف



تصویر ۱- میکروگراف برش‌های مخچه در گروه‌های کنترل (الف) گروه TMT+Saline، (ب) گروه TMT+GA200، (ج) پیکان‌های سفید: سلول‌های پورکینز سالم، پیکان سیاه: سلول‌های پورکینز آسیب دیده، پیکان سبز: مرگ سلول‌های گرانولار، پیکان زرد: تراکم شدن قطعات هسته‌ای، مستطیل سیاه: عدم رنگ‌پذیری هسته و سیتوپلاسم، ML: لایه مولکولی، PCL: لایه سلول‌های پورکینز و GL: لایه گرانولار، بزرگنمایی: ۴۰X.

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر تعداد سلول‌های پورکینز در مخچه و به طور اختصاصی در فولیاهای IV، V و VI در گروه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. طبق مطالعه حاضر دیده شد که مسمومیت با تری متیل تین سبب آسیب سلولی گسترده در مخچه و کاهش چشمگیر سلول‌های پورکینز می‌گردد (تصویر ۱-ب). همچنین، تحلیل عصبی وسیع در لایه‌های مختلف مخچه سبب کاهش وزن مخچه در گروه TMT+Saline نسبت به گروه کنترل گردید. تیمار با گالیک اسید به صورت وابسته به دوز اثرات سمیت تری متیل تین را در آسیب وارده به مخچه کاست. تجویز گالیک اسید سبب افزایش معنی‌دار وزن مخچه و افزایش قابل توجه تعداد سلول‌های پورکینز در نواحی مورد بررسی در گروه دریافت کننده دوز حداکثر (دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه TMT+saline گردید.

نورون‌ها پس از قرار گرفتن در معرض ارگانوتین‌ها به شدت آسیب می‌بینند (۲۲). کاوانگ و همکاران در سال ۱۹۹۰ در آزمایشی با قرار دادن سلول‌های پورکینز مخچه‌ای در معرض تری متیل تین مرگ این سلول‌ها را در محیط کشت نشان دادند (۲۳). کریبرگ و همکارانش نیز در سال ۱۹۹۲ تحقیقی را بر روی جسد زنی ۴۸ ساله که در معرض استنشاق تری متیل تین قرار گرفته بود، انجام دادند. میزان دریافتی تری متیل تین مشخص نبود. وی ابتدا به کما رفت و به تدریج اندام‌هایش از کار افتادند. یافته‌های پاتولوژی سیستم عصبی مرکزی کروماتولیزیز نورون‌ها را در مغز و طناب نخاعی نشان داد (۲۴). نکرودز در لایه سلولی پورکینز، قشر مخچه و لایه سلول‌های هرمی هیپوکامپ به همراه تجمع اجسام متراکم لیزوزومی و اختلال در سازماندهی شبکه اندوپلاسمی و اجسام راه راه سیتوپلاسمی در نورون‌های پورکینز به دنبال مسمومیت با تری متیل تین دیده شد (۲۴). پاسخ‌های متفاوتی از نورون‌های گونه‌های مختلف جانوری در ریخت‌شناسی و عملکرد نورون‌ها

به دنبال مسمومیت با تری متیل تین مشاهده شده است. سلول‌های پورکینز ژربیل پس از قرار گرفتن در معرض تری متیل تین، اختلالاتی را از خود نشان دادند. در مراحل اولیه مسمومیت، دستگاه گلژی متأثر شده و در شبکه اندوپلاسمی خشن نشانه‌هایی از واکوئل دار شدن شدید به همراه مرگ سلولی دیده شده است (۲۵).

نقش مخچه در بسیاری از بیماری‌های شناختی مشخص شده است (۲۶). زوال عقل الکلی یکی از دمانس‌های مربوط با آتروفی مخچه است و تراکم سلول‌های پورکینز به‌ویژه در بیماری آلزایمر کاهش می‌یابد. همچنین، متابولیسم مخچه در مراحل پیشرفته بیماری آلزایمر شدیداً کاهش می‌یابد (۲۷). از طرف دیگر، افرادی با اختلال دوقطبی به همراه سوء مصرف الکل ابعاد مخچه کوچکتری نسبت به افراد سالم داشتند (۲۸). در مطالعات دیگری دیده شده است که بیماری اوتیسم همراه با هایپوپلازی لوبول VI و VII می‌باشد (۲۹، ۳۰). با توجه به آسیب شدید سلول‌های پورکینز در مدل حاضر به نظر می‌رسد این مدل را بتوان به‌عنوان یک مدل کارآمدی از آسیب‌های بیماری‌های تحلیل برنده عصبی^۳ مخچه‌ای و بررسی مخچه شناختی معرفی نمود.

هرچند، تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با اثر تری متیل تین بر سلول‌های پورکینز مخچه صورت نگرفته است، مطالعه قبلی ما نشان داد که تراکم سلول‌های گرانولار در فولیای IV و V به دنبال مسمومیت تری متیل تینی به شدت کاهش می‌یابد (۲۲). از طرفی مطالعه حاضر نشان داد که با تجویز گالیک اسید می‌توان از دژنراسیون نورونی ناشی از تری متیل تین را در مدل حیوانی جلوگیری نمود. با توجه به نقش تری متیل تین در تولید گونه‌های فعال اکسیژن و القاء استرس اکسیداتیو احتمالاً به کارگیری آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند در جلوگیری از اثرات اکسیداتیو این ترکیب مؤثر واقع گردد. مطالعات قبلی ما نقش اسید گالیک را به‌عنوان ترکیب حمایت کننده عصبی در مدل دژنراسیون هیپوکامپ به‌عنوان مدلی از بیماری آلزایمر نشان دادند

³ Neurodegenerative

را در کاهش اثرات سمیت سلولی و مرگ نورونی تری متیل تین بر سلول‌های پورکینز به‌ویژه در فولیاهای IV، V و VI نشان داد. همچنین، نقش بالقوه تری متیل تین را در ایجاد مدلی برای بررسی آسیب‌های مخچه‌ای مرتبط با شناخت مطرح نمود. هر چند، مکانیسم‌های سلولی و مولکولی تأثیر این ماده بر سلول‌های پورکینز نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم لیدا درودی می‌باشد. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات عزیزانی که در نگارش این مقاله ما را یاری رساندند، قدردانی نمایند.

(۳۱، ۳۲). طی واکنش‌های استرس اکسیداتیو سطح تیول تام و فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPx) کاهش می‌یابد در حالی که میزان مالون دی آلدئید (MDA)^۵ در نواحی مختلف مغزی افزایش می‌یابد (۳۳). گالیک اسید با افزایش تیول تام و فعالیت آنزیم GPx و کاهش MDA اثرات استرس اکسیداتیو را در سلول‌ها کاهش می‌دهد (۳۳). ترکیبات پلی فنولی کوچک مانند گالیک اسید همانند دیگر فلاونوئیدها می‌توانند اثرات حفاظت عصبی^۶ مؤثری دارا باشند و از سمیت سلولی جلوگیری کنند (۳۴). همچنین، این ترکیبات از طریق تعدیل در مسیر سیگنالی هیپوکامپ و بیان پروتئین‌هایی نظیر BDNF می‌توانند اثرات نوروتروفیک ایفاء نمایند (۳۵، ۳۶). تحقیق حاضر اثر محافظت‌کنندگی عصبی گالیک اسید

منابع

1. Albus JS. A theory of cerebellar function. *Math Biosci.* 1971; 10(1-2): 25-61.
2. Armstrong DM, Harvey RJ, Schild RF. Topographical localization in the olivocerebellar projection: an electrophysiological study in the cat. *J Comp Neurol.* 1974; 154(3): 287-302.
3. Cesa R, Strata P. Axonal competition in the synaptic wiring of the cerebellar cortex during development and in the mature cerebellum. *Neuroscience.* 2009; 162(3): 624-32.
4. Hoche F, Guell X, Sherman JC, Vangel MG, Schmahmann JD. Cerebellar contribution to social cognition. *Cerebellum.* 2016; 15(6): 732-43.
5. Medini C, Nair B, D'Angelo E, Naldi G, Diwakar S. Modeling spike-train processing in the cerebellum granular layer and changes in plasticity reveal single neuron effects in neural ensembles. *Computat Intell Neurosci.* 2012; 35(9): 5. Doi: 10.1155/2012/359529.
6. Porras-Garcia ME, Ruiz R, Perez-Villegas EM, Armengol JA. Motor learning of mice lacking cerebellar purkinje cells. *Front Neuroanat.* 2013; 90(5): 7-13.
7. Bernard JA, Seidler RD, Hassevoort KM, Benson BL, Welsh RC, Wiggins JL, et al. Resting state cortico-cerebellar functional connectivity networks: a comparison of anatomical and self-organizing map approaches. *Front Neuroanat.* 2012; 6(4): 120-8.
8. Sullivan EV. Cognitive functions of the cerebellum. *Neuropsychol Rev.* 2010; 20(3): 227-8.
9. Geloso MC, Corvino V, Michetti F. Trimethyltin-induced hippocampal degeneration as a tool to investigate neurodegenerative processes. *Neurochemistry International.* 2011; 58(7): 729-38.
10. Gunasekar P, Li L, Prabhakaran K, Eybl V, Borowitz JL, Isom GE. Mechanisms of the apoptotic and necrotic actions of trimethyltin in cerebellar granule cells. *Toxicological Sciences.* 2001; 64(1): 83-9.
11. Haga S, Haga C, Aizawa T, Ikeda K. Neuronal degeneration and glial cell-responses following trimethyltin intoxication in the rat. *Acta Neuropathol.* 2002; 103(6): 575-82.
12. Gasparova Z, Pronayova N, Stara V, Liptaj T. In vitro metabolomic approach to hippocampal neurodegeneration induced by trimethyltin. *Neurochem Res.* 2016; 41(4): 715-21.
13. Reuhl KR, Gilbert SG, Mackenzie BA, Mallett JE, Rice DC. Acute trimethyltin intoxication in the monkey (*Macaca fascicularis*). *Toxicol Appl Pharmacol.* 1985; 79(3): 436-52.
14. Anderson VE, Hajimohammadreza I, Gallo JM, Anderton BH, Uney J, Brown AW, et al. Ubiquitin, PGP 9.5 and dense body formation in trimethyltin intoxication: differential neuronal responses to chemically induced cell damage. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 1992; 18(4): 360-75.
15. Alasalvar C, Bolling BW. Review of nut phytochemicals, fat-soluble bioactives, antioxidant components and health effects. *Br J Nutr.* 2015; 113(2): S68-78.
16. Choubey S, Varughese LR, Kumar V, Beniwal V. Medicinal importance of gallic acid and its ester

⁴ Glutathione peroxidase

⁵ Malondialdehyde

⁶ Neuroprotection

- derivatives: a patent review. *Pharm Pat Anal.* 2015; 4(4): 305-15.
17. Sarjit A, Wang Y, Dykes GA. Antimicrobial activity of gallic acid against thermophilic *Campylobacter* is strain specific and associated with a loss of calcium ions. *Food Microbiol.* 2015; 46: 227-33.
18. Hsieh SC, Wu CC, Hsu SL, Yen JH. Molecular mechanisms of gallic acid-induced growth inhibition, apoptosis, and necrosis in hypertrophic scar fibroblasts. *Life Sci.* 2016; pii: S0024-3205(16)30468-4.
19. Stoodley CJ, Schmammann JD. Functional topography in the human cerebellum: a meta-analysis of neuroimaging studies. *NeuroImage.* 2009; 44(2): 489-501.
20. Schmammann JD. Disorders of the cerebellum: ataxia, dysmetria of thought, and the cerebellar cognitive affective syndrome. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2004; 16: 367-78.
21. Edalatmanesh MA, Bahrami AR, Hosseini E, Hosseini M, Khatamsaz S. Bone marrow derived mesenchymal stem cell transplantation in cerebellar degeneration: a behavioral study. *Behav Brain Res.* 2011; 225(1): 63-70.
22. Shams-Alam S, Edalatmanesh MA. The effect of lithium chloride on the granular cell density in cerebellar folia V and VI in a trimethyltin intoxication model. *Shefaye Khatam.* 2015; 3(2): 41-8.
23. Cavanagh JB, Nolan CC, Brown AW. Glial cell intrusions actively remove detritus due to toxic chemicals from within nerve cells. *Neurotoxicology.* 1990; 11(1): 1-12.
24. Kreyberg S, Torvik A, Bjørneboe A, Wiik-Larsen W, Jacobsen D. Trimethyltin poisoning: report of a case with postmortem examination. *Clin Neuropathol.* 1991; 11(5): 256-9.
25. Nolan CC, Brown AW, Cavanagh JB. Regional variations in nerve cell responses to trimethyltin intoxication in mongolian gerbils and rats; further evidence for involvement of the golgi apparatus. *Acta Neuropathol.* 1990; 81(2): 204-12.
26. Bodranghien F, Baştian A, Casali C, Hallett M, Louis ED, Manto M, et al. consensus paper: revisiting the symptoms and signs of cerebellar syndrome. *Cerebellum.* 2016; 15(3): 369-91.
27. Schmammann JD. Cerebellum in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia: not a silent bystander. *Brain.* 2016; 139(5): 1314-8.
28. Zhao L, Wang Y, Jia Y, Zhong S, Sun Y, Zhou Z, et al. Cerebellar microstructural abnormalities in bipolar depression and unipolar depression: a diffusion kurtosis and perfusion imaging study. *J Affect Disord.* 2016; 195: 21-31.
29. Jaber M. The cerebellum as a major player in motor disturbances related to autistic syndrome disorders. *encephale.* 2016; pii: S0013-7006(16)30132-4.
30. Rout UK, Dhossche DM. A pathogenetic model of autism involving Purkinje cell loss through anti-GAD antibodies. *Medical Hypotheses.* 2008; 71: 218-21.
31. Bazyar Y, Rafiei S, Hosseini A, Edalatmanesh MA. Effect of endurance exercise training and gallic acid on tumor necrosis factor- α in an animal model of Alzheimer's disease. *Shefaye Khatam.* 2015; 3(3): 21-6.
32. Rafiei S, Bazyar Y, Edalatmanesh MA. Effect of gallic acid and endurance exercise training on BDNF in a model of hippocampal degeneration. *Shefaye Khatam.* 2016; 4(1):1-6.
33. Mansouri MT, Farbood Y, Sameri MJ, Sarkaki A, Naghizadeh B, Rafeirad M. Neuroprotective effects of oral gallic acid against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine in rats. *Food Chem.* 2013; 138(2-3): 1028-33.
34. Daglia M, Di Lorenzo A, Nabavi SF, Talas ZS, Nabavi SM. Polyphenols: well beyond the antioxidant capacity: gallic acid and related compounds as neuroprotective agents: you are what you eat! *Curr Pharm Biotechnol.* 2014; 15(4): 362-72.
35. Corona G, Vauzour D, Hercelin J, Williams CM, Spencer JP. Phenolic acid intake, delivered via moderate champagne wine consumption, improves spatial working memory via the modulation of hippocampal and cortical protein expression/activation. *Antioxid Redox Signal.* 2013; 19(14): 1676-89.
36. Moosavi F, Hosseini R, Saso L, Firuzi O. Modulation of neurotrophic signaling pathways by polyphenols. *Drug Des Devel Ther.* 2015; 10: 23-42.