

# اثرات تب و تشنج ساده بر تغییرات مولکولی مرتبط با آپوتوز، در هیپوکامپ نوزادان موش‌های صحرایی

محمدجواد سعیدی بروجنی<sup>۱</sup>، قاسم سازگار<sup>۲\*</sup>، جواد حامی<sup>۲</sup>، حسین حقیر<sup>۲</sup>، مریم راستین<sup>۲</sup>

## چکیده

**هدف:** تب و تشنج شایع‌ترین اختلال تشنجی دوران کودکی است و در ۵ تا ۲۵ درصد از کودکان رخ می‌دهد. تب و تشنج ساده معمولاً اختلالی بی‌ضرر محسوب می‌شود؛ با وجود این، شواهد نشان می‌دهد با اختلالات هیپوکامپ در بزرگسالی مرتبط است. این مطالعه با هدف اندازه‌گیری میزان پروتئین‌های Bax و Bcl-2 به‌عنوان دو مارکر شاخص آپوتوز در هیپوکامپ نوزادان موش‌های صحرایی، بعد از القای تب و تشنج ساده طراحی شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، القای تب و تشنج با استفاده از حمام آب گرم در نوزادان نر ۲۲ روزه موش‌های صحرایی شبیه‌سازی شد. حیوانات براساس داشتن و نداشتن رفتارهای تشنجی به دو گروه تقسیم شدند: هیپرترمی همراه با تشنج (n=۱۰) و هیپرترمی بدون تشنج (n=۱۰). به‌منظور کنترل اثرهای استرس محیطی، یک گروه شم-کنترل (n=۱۰) نیز به مطالعه افزوده شد. هیپوکامپ موش‌های صحرایی در روز پانزدهم، بعد از هیپرترمی خارج و میزان پروتئین‌های Bax و Bcl-2 با استفاده از تکنیک وسترن بلائینگ اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد سطح پروتئین Bcl-2 در هیپوکامپ گروه هیپرترمی همراه تشنج به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل-شم و هیپرترمی بدون تشنج بود. از طرفی، میزان پروتئین Bax در گروه هیپرترمی همراه با تشنج در مقایسه با گروه کنترل-شم و هیپرترمی بدون تشنج بسیار بیشتر بود.

**نتیجه‌گیری:** القای تب و تشنج ساده با تغییر در میزان پروتئین‌های Bax و Bcl-2 مرتبط است که نشانگر پیشرفت آپوتوز سلولی در هیپوکامپ نوزادان موش‌های صحرایی است که حداقل تا پانزده روز اندازه‌گیری می‌شود.

**کلیدواژه‌ها:** آپوتوز، تب و تشنج ساده، هیپوکامپ

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران.
- ۲- دکترای آناتومی، استادیار گروه علوم تشریحی و بیولوژی سلولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران.
- ۳- دکترای آناتومی، استادیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، ایران.
- ۴- دکترای ایمونولوژی، استادیار گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران.

دریافت مقاله: ۹۱/۱۱/۱۶

پذیرش مقاله: ۹۲/۰۴/۰۱

\* آدرس نویسنده مسئول:

مشهد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریحی و بیولوژی سلولی.

\* تلفن: ۸۰۰۲۴۸۳ (۵۱۱) ۹۸+

\* رایانامه:

sazegargh@mums.ac.ir

WWW



## مقدمه

در جوامع مختلف، تب و تشنج با میزان بروز بین ۲ تا ۵ درصد، شایع‌ترین نوع تشنج در اطفال محسوب می‌شود (۱). این سندرم، در انسان بین سه‌ماهگی تا شش‌سالگی رخ می‌دهد (۲). در ایران، آمار دقیق این بیماری مشخص نیست (۳). براساس بیشتر مطالعات، تشنج‌های طولانی‌مدت و کانونی که از انواع تب و تشنج‌های پیچیده است، احتمال ابتلا به صرع مقاوم به درمان لوب تمپورال را افزایش می‌دهد (۴-۸). از سویی، بیشتر مطالعات از خوش‌خیم‌بودن تب و تشنج ساده را گزارش کرده‌اند و تنها دو عارضه اصلی برای آن قائل‌اند که عبارت است از: ۱. افزایش احتمال تب و تشنج مکرر؛ ۲. افزایش احتمال ابتلا به صرع. در این بین، عارضه اول، شیوع بیشتر و عارضه دوم شیوع کمتری داشته است (۹). ابهامات فعلی درباره عوارض احتمالی تکرار تب و تشنج ساده، به‌ویژه آسیب پایدار بافت عصبی، باعث سردرگمی در نحوه برخورد بالینی با این نوع تشنج در اطفال شده است (۱۰). از سویی، رویکرد تحت‌نظرگرفتن بدون اقدام درمانی خاص، والدین را با نگرانی‌های بسیاری درباره عوارض احتمالی این تشنج‌ها روبه‌رو کرده است و از طرف دیگر، درمان‌های ضد تشنج درباره این بیماران، آن‌ها را در معرض خطر عوارض جانبی داروهای ضد صرع قرار می‌دهد که بعضاً برگشت‌ناپذیر است (۹). مهم‌تر آنکه مطالعات بسیاری میزان اثربخشی درمان‌های رایج را برای جلوگیری از تکرار یا عارضه‌دارشدن تب و تشنج ساده رد کرده است (۱۱-۱۴). به‌هر حال، با توجه به شیوع بسیار این عارضه، تأثیرات سوء احتمالی آن ممکن است در خانواده و جامعه، آثار درخور توجهی به دنبال داشته باشد. در مجموع، درباره نحوه برخورد با بیمارانی که دچار حمله تب و تشنج ساده می‌شوند، کامکاناختلاف نظر وجود دارد (۹).

این نوع تشنج در اطفال، ناگهان و متعاقب نوعی بیماری تب‌دار به‌وجود می‌آید (۷)؛ لذا توجه به جنبه‌های مختلف تشنج امکان‌پذیر نیست و گزارش‌های رسیده والدین هم درجه اعتبار علمی بالایی ندارد. از طرفی، پاسخ به بسیاری از پرسش‌های کلیدی این حیطه از جمله مکانیسم ایجاد این نوع تشنج و اثرهای حاد و مزمن آن روی مغز با مطالعات انسانی امکان‌پذیر نیست. به‌همین منظور، متخصصان علوم بالینی و پایه، درصدد ایجاد مدل‌های تجربی مختلفی برای شبیه‌سازی تب و تشنج در آزمایشگاه برآمدند؛ زیرا مراحل مختلف تشنج در حیوانات قابل مشاهده و ثبت است و امکان مطالعه روی مغز حیوان بعد از تشنج وجود دارد.

هیپوکامپ بخشی از سیستم لیمبیک مغز است که شناخته‌شده‌ترین عمل آن، حفظ اطلاعات در حافظه کوتاه‌مدت و تبدیل آن به حافظه بلندمدت است. طبق بررسی‌ها، تب و تشنج پیچیده و صرع

لوب تمپورال، آسیب‌های پایدار عصبی در هیپوکامپ ایجاد می‌کنند (۱۶، ۱۵). مطالعه مقاطع MRI افراد ۱۵ ساله‌ای که تاریخچه‌ای از تب و تشنج ساده داشتند، نشان داد این نوع تشنج ممکن است آسیب‌های پایدار در هیپوکامپ ایجاد کند (۱۷). همچنین، مطالعه اپیدمیولوژیکی نشان داد تب و تشنج ساده، در پاره‌ای نمونه‌ها با مرگ ناگهانی کودک نوپا همراه است (۱۸).

آپوپتوز شکلی از مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی و سازوکار مهم هموستاز بافتی است که در بسیاری از نمونه‌های پاتولوژیک به‌چشم می‌خورد. بنابراین، محرک‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک بسیاری شناخته شده است که سبب القای آپوپتوز سلولی می‌شود (۲۰، ۱۹). این فرایند، پدیده تنظیمی وابسته به ژن است که گروه‌های ژنی متعددی آن را کنترل می‌کنند (۱۹). از خانواده‌های ژنی مهم مرتبط با مسیر آپوپتوز، خانواده  $Bcl-2$  است. این خانواده شامل ژن‌های پروآپوپتوتیک ( $Bax, Bak, Bad, \dots$ ) و ژن‌های آنتی‌آپوپتوتیک ( $Bcl-w, Bcl-xl, Bcl-2$ ) است. ژن‌های  $Bax$  و  $Bcl-2$  اعضای بسیار مهم خانواده  $Bcl-2$  هستند که به‌طور وسیعی در سیستم عصبی بیان می‌شوند (۲۱، ۱۹). عملکرد پروتئین‌های  $Bax$  و  $Bcl-2$  متضاد است؛ بدین معنی که بیان پروتئین  $Bax$  باعث القای آپوپتوز شده و برعکس بیان  $Bcl-2$ ، فرایند آپوپتوز را مهار می‌کند (۲۲، ۲۱).

این مطالعه، با اندازه‌گیری سطح پروتئین  $Bax$  و  $Bcl-2$ ، به بررسی مولکولی آپوپتوز احتمالی ایجادشده در هیپوکامپ نوزادان موش‌های صحرایی با سابقه تب و تشنج ساده پرداخته است. روش بررسی

مطالعه حاضر، نوعی مطالعه تجربی است که برای انجام دادن آن، ۳۰ سر موش صحرایی ماده و ۱۰ موش صحرایی نر، نژاد ویستار از حیوان‌خانه دانشکده پزشکی مشهد خریداری شد. در طول آزمایش، حیوانات دسترسی کافی به آب و غذا داشته و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد، برای آن‌ها تأمین شد.

به‌منظور جفت‌گیری، حیوانات با نسبت ۳ به ۱ در قفس‌های شیشه‌ای جداگانه‌ای قرار گرفتند. پس از اطمینان از بارداری، هر موش صحرایی به قفس جداگانه‌ای منتقل شد. پس از گذراندن دوره بارداری و زایمان، روز اول پس از تولد برای هر قفس مشخص شد. نوزادان در طول دوره شیرخوارگی تا ۲۲ روز پس از تولد، به‌همراه حیوانات مادر نگهداری شدند.

القای تب و تشنج: در روز بیست‌ودوم پس از تولد، نوزادان نر از ماده جدا شدند. به‌منظور القای هیپرترمی از مدل حمام آب گرم استفاده شد (۲۴)؛ به‌طوری‌که نوزادان ۲۲ روزه نر به مدت ۴ دقیقه در تانک آبی به ابعاد  $30 \times 30 \times 30$  سانتی‌متر قرار گرفتند.



شدند، گروه هیپوترمی همراه تشنج ( $n=10$ ) نامیده شدند. براساس مقیاس ۴ مرحله‌ای تشنج (۲۴) (جدول ۱)، موش‌هایی که به مرحله ۴ تشنج رسیدند ( $n=10$ ) علامت گذاری و به قفس خود بازگردانده شدند. به منظور کنترل اثرهای استرس (گروه شم-کنترل) ( $n=10$ ) حیوانات به مدت چهار دقیقه در همان تانک آب، با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس حیوانات گروه‌های هیپوترمی بدون تشنج، هیپوترمی با تشنج مرحله ۴ و شم-کنترل، ۱۵ روز پس از القای هیپوترمی، با کلرال هیدرات ( $mg/kg^{3.50}$ ) بیهوش و هیپوکامپ مغز آن‌ها خارج شد.

دمای آب ۴۵ درجه سانتی‌گراد و عمق آن در حدی بود که حیوان می‌توانست به طوری بایستد که سرش بیرون آب باشد. مطالعات نشان می‌دهد دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد در بازه زمانی کمتر از ۱ ساعت، آسیب پوستی در حیوان ایجاد نمی‌کند (۲۳). در طول آزمایش، دمای آب و دمای بدن حیوانات با دماسنج‌های مخصوص آبی و رکناک کنترل می‌شد. از زمان قراردادن حیوان در آب تا لحظه پایان تشنج، زمان با کرنومتر دیجیتالی ثبت شد. حیواناتی که در مدت ۴ دقیقه، در آب دچار تشنج نشدند ( $n=10$ )، گروه هیپوترمی بدون تشنج و گروهی که به دنبال هیپوترمی دچار تشنج

جدول ۱. مراحل تشنجی و خصوصیات رفتاری حیوانات در هر مرحله

مرحله تشنج	خصوصیات رفتاری
اول	رؤیت کلونوس صورت در حیوان
دوم	وجود تکانه‌های شدید سر در حیوان
سوم	کلونوس اندام پیشین در حیوان
چهارم*	خم شدن حیوان بر تکیه‌گاه دم یا به عقب افتادن حیوان

\* مطالعه ما در مرحله چهارم صورت گرفت.

باند‌های پروتئینی با روش کمی لومینسانس تقویت شده (ECL) و به کمک دستگاه Gel Bioimaging, system, syngene, (Documention)، (انگلیس) مشاهده و شناسایی شد. برای کمی‌سازی نسبی غلظت پروتئین در باندهای وسترن بلات، از نرم‌افزار [ImageJ استفاده شد. در ضمن، از اندازه‌گیری بتا‌آکتین به عنوان کنترل‌کننده داخلی استفاده شد. داده‌های حاصل از مطالعه، با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون ANOVA و پس‌آزمون Tukey برای مقایسه بین گروهی تجزیه و تحلیل شد.

#### یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار وزن و دمای بدن حیوانات، پیش از آزمایش به ترتیب  $46 \pm 0.3$  گرم و  $36.7 \pm 0.2$  درجه سانتی‌گراد بود. جدول ۲ بیانگر دمای بدن حیوانات در گروه‌های سه‌گانه تحت آزمایش پس از القای هیپوترمی است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، مدل حمام آب گرم توانسته است سبب افزایش معنی‌دار دمای بدن حیوانات در هر دو گروه هیپوترمی همراه با تشنج [ $F(1/67)=17/4, P=0/03$ ] و هیپوترمی بدون تشنج [ $F(1/209)=30/5, P=0/032$ ] در مقایسه با گروه شم-کنترل شود.

#### استخراج پروتئین و وسترن بلاتینگ

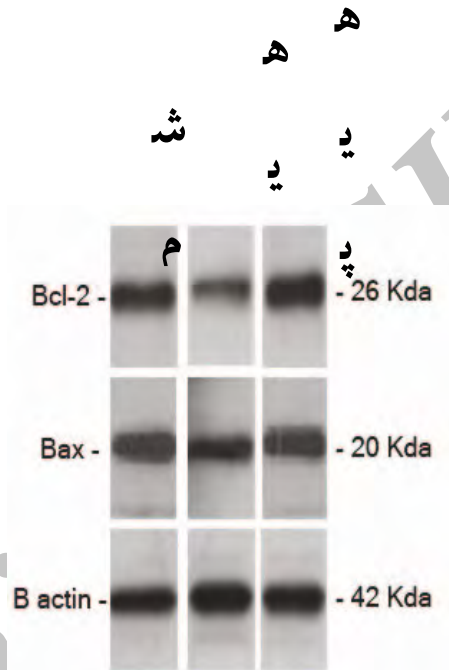
میزان ساخت پروتئین Bax و Bcl-2 در هیپوکامپ نوزادان، به عنوان دو پروتئین دخیل در روند آپوتوز با روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد. در این تکنیک، هیپوکامپ حیوانات با استفاده از بافر لیزکننده پروتئین ( $50, 150 \text{ mM NaCl}, 1 \text{ mM Tris-HCl}$ )،  $1 \text{ mM EDTA}$ ،  $0.5 \text{ mM Triton X-100}$ ،  $1 \text{ mM}$  protease inhibitor cocktail, PH 7.4) لیز و هموژنیزه شد. میزان پروتئین Bcl-2 و Bax با روش Bio-rad protein اندازه‌گیری گردید. نمونه‌های پروتئینی به وسیله SDS-PAGE جدا شد و سپس پروتئین‌ها به وسیله الکتروفورز در تانکی به غشای PVDF (شرکت Millipore، امریکا) منتقل و با رنگ برگشت پذیر رنگ‌آمیزی شدند. در مرحله بعد، غشای PVDF حاوی پروتئین در محلول بلوک‌کننده دترجنتی غوطه‌ور شده و در معرض آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال اولیه ضد Bax (غلظت  $1:1000$ )، شرکت abcam، کمبریج، انگلیس) و ضد Bcl-2 (غلظت  $1:500$ )، شرکت abcam، کمبریج، انگلیس) و ضد بتا‌آکتین (غلظت  $1:2000$ )، شرکت Sigma، امریکا) به مدت یک شب، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و سپس به مدت دو ساعت در درجه حرارت اتاق در معرض آنتی‌بادی مونوکلونال ثانویه ضد IgG (غلظت  $1:1000$ )، شرکت Signalway، امریکا) که با آنزیم آلكالین فسفاتاز یا پراکسیداز کونژوگه شده، قرار داده شد. در مرحله نهایی،



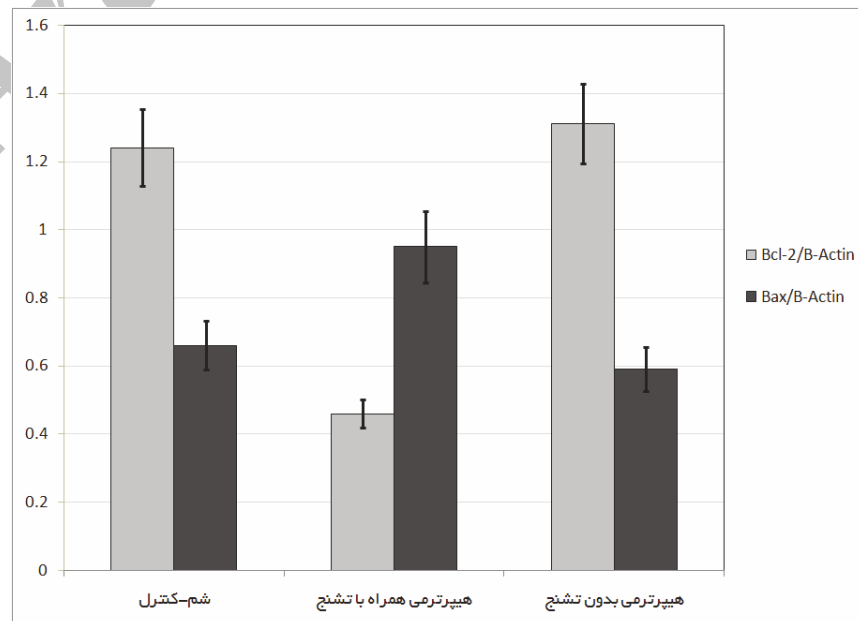
جدول ۲. مقایسه دمای بدن در گروه‌های تحت آزمایش، پس از القای هیپرترمی

گروه	دمای بدن پس از القا هیپرترمی (سانتی‌گراد)
کنترل-شم	$0.7 \pm 36.5$
هیپرترمی بدون تشنج	$\pm 38.7 \quad 0.81^*$
هیپرترمی همراه با تشنج	$\pm 41.5 \quad 0.98^*$

\* P value  $< 0.05$  در مقایسه با گروه شم-کنترل



شکل ۱. باندهای وسترن بلائینگ پروتئین‌های Bcl-2 و Bax در هیپوکامپ گروه‌های کنترل-شم، هیپرترمی همراه با تشنج و هیپرترمی بدون تشنج



نمودار ۱. اندازه‌گیری نیمه کمی نسبت پروتئین‌های Bcl-2 و Bax به بتا‌آکتین در هیپوکامپ گروه‌های کنترل-شم، هیپرترمی همراه با تشنج و هیپرترمی بدون تشنج. (\*\*مقدار احتمال کمتر از  $0.05$  در مقایسه با گروه شم-کنترل)



نتایج بررسی پروتئین‌های ۲Bcl- و Bax دخیل در روند آپوتوزیس در هیپوکامپ نوزادان موش‌های صحرایی، با استفاده از روش وسترن‌بلات و اندازه‌گیری نیمه‌کمی آن با استفاده از نرم‌افزار ImageJ به‌ترتیب در شکل ۱ و نمودار ۱ مشخص شده است. در این مطالعه، تک‌باند ۲۶ کیلودالتونی برای پروتئین ۲۰، ۲Bcl- کیلودالتونی برای پروتئین Bax و ۴۲ کیلودالتونی برای بتا‌آکتین یافت شد.

دو هفته پس از القای هیپوترمی، میزان بیان پروتئین آنتی‌آپوتوتیک ۲Bcl- در هیپوکامپ گروه هیپوترمی همراه با تشنج، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل-شم ( $P=0/011$ ) و هیپوترمی بدون تشنج ( $P=0/021$ ) نشان داد (شکل ۱ و نمودار ۱). علاوه بر این، میزان بیان پروتئین پروآپوتوتیک Bax در هیپوکامپ گروه هیپوترمی همراه با تشنج، نسبت به گروه کنترل-شم ( $P=0/041$ ) و هیپوترمی بدون تشنج افزایش معنی‌داری نشان داد ( $P=0/03$ ) (شکل ۱ و نمودار ۱).

### بحث

در این مطالعه، از مدل حمام آب گرم برای القای تب و تشنج استفاده شد که توانایی تنظیم دقیق درجه حرارت یکی از مزیت‌های استفاده این مدل نسبت به مدل‌های دیگر القای تب و تشنج است (۲۴). تاکنون، مدل‌های متفاوتی برای شبیه‌سازی تب و تشنج پیشنهاد شده است. مدل‌های حیوانی استفاده شده برای مطالعه شرایط انسان، با توجه به ماهیت آن، ممکن است تنها نزدیک به واقعیت باشد. بنابراین، در آن مدل باید ویژگی‌های کلیدی که برای هر مدل معنی‌دار از شرایط انسان ضروری است، تعریف شود. علاوه بر این، ویژگی‌ها و ماهیت هر مدل ارائه شده، به ما در پاسخ‌گویی به بسیاری از پرسش‌ها کمک می‌کند؛ مثلاً در القای هیپوترمی برای ایجاد تب نمی‌توان سازوکارهای دخیل در بروز تب را بررسی کرد؛ بنابراین این موضوع فهمیده می‌شود که باید مدل‌های حیوانی را طراحی کنیم که نشان‌دهنده شرایط بالینی همراه با تشنج باشد (۲۵).

نکته بسیار مهمی که باید در انتخاب مدل حیوانی مناسب به آن توجه شود، سن حیوانات است که باید منعکس‌کننده شرایط سنی مشابه در انسان باشد. به دلیل اینکه رشد مناطق مغزی در دوره‌های نوروزن و مهاجرت و عملکرد در سنین مختلف و با میزان‌های متفاوتی تغییر می‌کند، لزوماً دوره زمانی این فرایندها در انسان و موش صحرایی مشابه نیست؛ اما مطالعات صورت گرفته با هدف مقایسه میزان رشد مغز انسان و موش صحرایی نشان داده است موش‌های صحرایی با سن ۵ تا ۷ روز، معادل جنین

۹ ماهه در انسان هستند (۲۷، ۲۶). همچنین، مغز موش صحرایی ۵ روزه، معادل مغز نوزاد انسان ۱ ساله و موش صحرایی ۲۸ تا ۳۰ روزه، معادل نوزاد ۲ ساله انسان است (۲۸). بنابراین، با توجه به مقایسه آناتومیکی بین مغز انسان و موش صحرایی و همچنین، خطر بروز صرع لوب تمپورال در بیماران دچار تب و تشنج در ۶ ماهگی تا ۵ سالگی (۲۸)، انتخاب روز بیست و دوم پس از تولد که مطالعه ما در این دوره صورت گرفته است، تقریباً معادل اواخر دوران نوپایگی نوزاد انسان (۲۴، ۲۳) و نزدیک‌ترین سن به حالت بالینی است.

در نوزادان موش صحرایی، هیپوترمی سبب ایجاد پاره‌ای رفتارهای کلیشه‌ای می‌شود که شامل فلکسیون تونیک بدن به همراه میوکولونوس صورت است. این حرکات عمدتاً مربوط به تشنج‌های ناحیه لیمبیک (۳۰، ۲۹) است. بررسی‌ها نشان داده است افزایش درجه حرارت بدن، به‌تنهایی نقش مهمی در ایجاد تب و تشنج بازی می‌کند (۳۱). این احتمال وجود دارد که هم تغییر در ویژگی‌های نورونی و هم اتصالات سیناپسی، در سازوکار ایجاد تب و تشنج ایفای نقش کند. در مدل‌های مختلف، نشان داده شده است که خصوصیات ذاتی نورون و پتانسیل‌های سیناپسی، به‌طور گسترده‌ای به دما وابسته است (۳۲). افزایش اندک درجه حرارت در هیپوکامپ زمان دپلاریزاسیون و رپلاریزاسیون عصب را کاهش داده و از این طریق، دامنه پتانسیل عمل را کوتاه می‌کند و سبب افزایش سرعت هدایت در آکسون و افزایش سرعت ترشح ترانسمیترها می‌شود (۳۴، ۳۳).

مطالعات بالینی و تجربی، نتایج ضدونقیضی از تأثیر تب و تشنج بر سیستم عصبی گزارش کرده‌اند. در مطالعه‌ای مشخص شد موش‌های صحرایی بالغی که پیشینه تب و تشنج دارند، در حافظه کاری ضعیف‌تر از گروه کنترل هستند. دلیل احتمالی بر این اختلال حافظه، آسیب‌پذیری سلول‌های ناحیه CA هیپوکامپ گفته شده است. افزون‌بر این، اختلال در مسیرهای عصبی چرخه هیپوکامپ نیز عاملی احتمالی در ایجاد این اختلال به حساب می‌آید (۲). مطالعه‌ای در بریتانیا روی کودکان ۱۰ ساله با پیشینه تب و تشنج، نشان داد این کودکان از گروه کنترل تحریک‌پذیرتر و عصبی‌ترند. علاوه بر این، این کودکان در حرکات ژیمناستیک ضعیف‌تر از همسالان خود بودند؛ ولی در مهارت‌های آکادمیک تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان ندادند (۸).

مطالعه حاضر نشان داد هیپوترمی شدن حیوانات به‌تنهایی سبب افزایش چشم‌گیر آپوتوز در هیپوکامپ نوزادان موش‌های صحرایی نمی‌شود؛ درحالی‌که هیپوترمی همراه با تشنج، سبب افزایش بیان ژن Bax و کاهش بیان ژن ۲Bcl- در سطح پروتئین



همخوانی دارد.

### نتیجه گیری

القای تب و تشنج ساده با تغییر در میزان پروتئین های Bcl-2 و Bax مرتبط است که نشانگر پیشرفت آپوتوز سلولی در هیپوکامپ نوزادان موش های صحرایی است که حداقل تا پانزده روز اندازه گیری می شود. مطالعه مولکولی ژن ها و پروتئین های دخیل در نوروزنز ضروری به نظر می رسد.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه، در راستای طرح پژوهشی شماره ۹۰۰۹۴۷، مصوبه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. از تمامی عزیزانی که ما را در انجام این مطالعه یاری کردند، سپاسگزاریم.

### منابع

- 1-Jones T, Jacobsen SJ. Childhood febrile seizures: overview and implications. *Int J Med Sci.* 2007;4(2):110-14.
- 2-Dube CM, Brewster AL, Richichi C, Zha Q, Baram TZ, Fever, febrile seizures and epilepsy. *Trends Neurosci.* 2007;30(10):490-6.
- 3-Mohebbi MR, Navipour R, Seyedkazemi M, Zamanian H, Khamseh F. Adult-onset epilepsy and history of childhood febrile seizures: a retrospective study. *Neurol India.* 2004;52(4):463-5.
- 4-Bender RA, Baram TZ. Epileptogenesis in the developing brain: what can we learn from animal models? *Epilepsia.* 2007;48(5):2-6.
- 5-Abou-Khalil B, Andermann E, Andermann F, Olivier A, Quesney LF: Temporal lobe epilepsy after prolonged febrile convulsions: excellent outcome after surgical treatment. *Epilepsia.* 1993;34(5):878- 83.
- 6-Cendes F. Febrile seizures and mesial temporal sclerosis. *Curr Opin Neurol.* 2004;17(2):161-4.
- 7-French JA, Williamson PD, Thadani VM, Darcey TM, Mattson RH, Spencer SS, et al: Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I-Results of history and physical examination. *Ann Neurol.* 1993;34(6):774-80.
- 8-Verity CM, Butler NR, Golding J. Febrile convulsions in a national cohort followed up from birth. I-Prevalence and recurrence in the first five years of life. *Br Med J.* 1985;290(6478):1307-10.
- 9-Baumann RJ. Technical report: treatment of the child with simple febrile seizures. *Pediatrics.* 1999;103(6):e86.
- 10-Toth Z, Yan XX, Haftoglou S, Ribak CE, Baram TZ. Seizure-induced neuronal injury: vulnerability to febrile seizures in an immature rat model. *J Neurosci.* 1998;18(11):4285-94.
- 11-McLario DJ, Thompson T. The evaluation and treatment of the child with an apparent febrile seizure. *The Journal of the Arkansas Medical Society.* 2011;108(6):118-20.
- 12-Melchior JC, Buchthal F, Lennox-Buchthal M. The ineffectiveness of diphenylhydantoin in preventing febrile convulsions in the age of greatest risk, under three years. *Epilepsia.* 1971;12(1):55-62.
- 13-Millar JS. Evaluation and treatment of the child with febrile seizure. *Am Fam Physician.* 2006;73(10):1761-4.
- 14-Leung AK, Robson WL. Febrile seizures. *J Pediatr Health Care.* 2007;21(4):250-255.
- 15-Gibbs S, Chattopadhyaya B, Desgent S, Awad PN, Clerk-Lamallice O, Levesque M, et al. Long-term consequences of a prolonged febrile seizure in a dual pathology model. *Neurobiol Dis.* 2011;43(2):312-21.
- 16-Ohno Y, Ishihara S, Mashimo T, Sofue N, Shimizu S, Imaoku T, et al. Scn1a missense mutation causes limbic hyperexcitability and vulnerability to experimental febrile seizures. *Neurobiol Dis.* 2011;41(2):261-9.
- 17-Auer T, Barsi P, Bone B, Angyalosi A, Aradi M, Szalay C, et al. History of simple febrile seizures is associated with hippocampal abnormalities in adults. *Epilepsia.* 2008;49(9):1562-9.
- 18-Kinney HC, Chadwick AE, Crandall LA, Grafe M, Armstrong DL, Kupsky WJ, et al: Sudden death, febrile seizures, and hippocampal and temporal lobe maldevelopment in toddlers: a new entity. *Pediatr Dev Pathol.* 2009;12(6):455-63.
- 19-Israels L, Israels E. Apoptosis. *The Oncologist.* 1999;4:332-9.
- 20-Thompson C. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science.* 1995;267:1456-62.
- 21-Kroemer G. The proto-oncogene Bcl-2 and its role in regulating apoptosis. *Nature Medicine.* 1997;3(6):614-20.
- 22-Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science.* 1998;281(5381):1305-8.
- 23-Jiang W, Duong TM, de Lanerolle NC. The neuropathology of hyperthermic seizures in the rat. *Epilepsia.* 1999;40(1):5-19.
- 24-Nazem A, Jafarian AH, Sadraie SH, Gorji A, Kheradmand H, Radmard M, et al. Neuronal injury and cytogenesis after simple febrile seizures in the hippocampal dentate gyrus of juvenile rat. *Childs Nerv Syst.* 2012;28(11):1931-6.
- 25-Bender RA, Dubé C, Baram TZ. Febrile seizures and mechanisms of epileptogenesis: insights from an animal model. *Recent Advances in Epilepsy Research.* Springer; 2004, pp:213-25.
- 26- Dobbing J, Sands J. Quantitative growth and development of human brain. *Arch Dis Child.* 1973;48(10):757-67.
- 27-Gottlieb A, Keydar I, Epstein HT. Rodent brain growth stages: an analytical review. *Biol Neonate.* 1977;32(3,4):166-76.
- 28-Lennox-Buchthal MA. Febrile convulsions. A reappraisal. *Electroencephalography and clinical neurophysiology.* 1973;32:Suppl-1.
- 29-Baram TZ, Hirsch E, Snead OC, Schultz L. Corticotropin-releasing hormone-induced seizures in infant rats originate in the amygdala.

Annals of neurology. 1992;31(5):488-94.

30-Kalviainen R, Salmenpera T, Partanen K, Vainio P, Riekkinen P, Pitkanen A. Recurrent seizures may cause hippocampal damage in temporal lobe epilepsy. Neurology. 1998;50(5):1377-82.

31-Berg AT, Shinnar S, Shapiro ED, Salomon ME, Crain EF, Hauser WA. Risk factors for a first febrile seizure: a matched case-control study. Epilepsia. 1995;36(4):334-41.

32-Qu L, Leung LS. Effects of temperature elevation on neuronal

inhibition in hippocampal neurons of immature and mature rats. J Neurosci Res. 2009;87(12):2773-85.

33-Andersen P, Moser EI. Brain temperature and hippocampal function. Hippocampus. 1995;5(6):491-8.

34-Eckerman P, Scharruhn K, Horowitz JM. Effects of temperature and acid-base state on hippocampal population spikes in hamsters. Am J Physiol. 1990;258(5Pt2):R1140-6.

Archive of SID

# The Impacts of Simple Febrile Seizure on Apoptosis Related Molecular Changes in Hippocampus of Rat Neonates

Saeedi Borujeni M. (M.Sc.)<sup>1</sup>, \*Sazegar G. (Ph.D.)<sup>2</sup>, Hami J. (Ph.D.)<sup>3</sup>, Rastin M. (Ph.D.)<sup>4</sup>

Receive date: 04/02/2013  
Accept date: 22/06/2013

1-M.Sc. student of anatomical sciences, Department of anatomical sciences and cell biology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

2-Ph.D. in Anatomy, Assistant Professor of Department of Anatomical Sciences and Cell Biology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

3- Ph.D. in Anatomy, Assistant Professor of Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

4- Ph.D. in Immunology, Assistant Professor of Department of immunology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

\*Correspondent Author Address:  
Department of Anatomy and Cell Biology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

\*Tel: +98 (511) 8002483

\*E-mail: sazegargh@mums.ac.ir

## Abstract

**Objective:** Febrile seizures are the most common seizure disorder in childhood, and occur in 2-5% of children. While simple febrile seizures are frequently described as inoffensive disorder; there are evidence suggesting the association between simple febrile seizures and hippocampal abnormalities in adulthood. This study was designed to evaluate the protein levels of Bcl-2 and Bax as two major apoptosis markers, in the rat neonates' hippocampus due to Simple Febrile Seizure.

**Materials & Methods:** Febrile seizure was modeled by hyperthermia-induced seizure in 22-day-old male rats using a hot water bath. Animals were divided into two groups based on the presence or absence of seizure behaviours; Hyperthermia without seizure (n=10) and Hyperthermia with seizure (n=10). To control the effects of environmental stress a sham-control group was also added to the study (n=10). The rats' hippocampi were removed 15 days after hyperthermia. The expression of Bax and Bcl-2 proteins were measured using Western Blot technique.

**Results:** Our results showed that the protein levels of Bcl-2 were significantly lower in hippocampus of hyperthermia with seizure group rats than that of the sham-control and Hyperthermia without seizure groups. Whereas, the levels of Bax protein in hippocampi of hyperthermia with seizure group animals showed a markedly upregulation, when compared to sham-control and Hyperthermia without seizure groups.

**Conclusion:** Simple febrile seizure is associated with changes in the level of Bcl2 ,and Bax proteins, indicating an apoptosis improvement in hippocampi of juvenile rats, which were measurable for at least 15 days.

**Keywords:** Simple Febrile Seizure , Hippocampus , Apoptosis

www.SID.ir