

The Effect of Minocycline on Cerebellar Purkinje Neurons in Epileptic Rats

Rahim Golmohammadi¹,
Mehdi Behashti²

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

² Instructor, Cellular and Molecular Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

(Received March 7, 2018 ; Accepted June 25, 2018)

Abstract

Background and purpose: Minocycline is an antibiotic which has anti-inflammatory and anti-seizure properties. There is no reliable evidence on the effect of Minocycline on histological structures of cerebellar Purkinje neurons. This study aimed at elucidating this effect in epileptic rats.

Materials and methods: This experimental study was conducted in 24 rats which were randomly divided into three different groups (n=8 per group). In groups I and II epilepsy was induced by pentylenetetrazole at 40mg/Kg. Group I was administrated minocycline at 25 mg/Kg whereas group II was given normal saline at 25 mg/Kg for two weeks. Group III was the control that received only normal saline. The rats were all deeply anesthetized and cerebellectomized. All removed cerebella were stained by APAF-1 (Apoptotic Peptidase Activating Factor -1), then safe normal Purkinje neurons were counted. Data analysis was done applying Dunnett test.

Results: Significant difference was seen in mean number of normal neurons between groups I and II and the control group (p<0.001). Compared with group II, we observed a significant increase in mean number of normal Purkinje neurons in group I (p<0.01).

Conclusion: Treatment with minocycline was found to have protective effect on Purkinje neurons in the cerebellum of epileptic rats.

Keywords: Purkinje neurons, cerebellum, minocycline, pentylenetetrazole, rats, epilepsy

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 28 (168): 177-184 (Persian).

* Corresponding Author: Rahim Golmohammadi - Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran (E-mail: rahimgolmohammadi@yahoo.com)

بررسی اثر ماینوسیکلین بر روی نوروں های پورکنز مخچه موش صحرایی نر صرعی شده

رحیم گل محمدی^۱

سید مهدی بهشتی^۲

چکیده

سابقه و هدف: ماینوسیکلین آنتی‌بیوتیکی است که نقش ضد التهابی و ضد تشنجی دارد. در مورد اثر ماینوسیکلین بر روی نوروں های پورکنز هیچ گزارشی مشاهده نشده است. هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر ماینوسیکلین بر روی ساختار نوروں های پورکنز مخچه موش صحرایی صرعی شده می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش صحرایی به صورت تصادفی به سه گروه ۸ تایی تقسیم شدند. موش های گروه ۱ و ۲ توسط پنتیلین تترازول (PTZ) ۴۰ mg/kg صرعی شدند. در گروه اول تجربی صرعی شده، ماینوسیکلین (۲۵ mg/kg) به مدت دو هفته تزریق شد، گروه دوم تجربی صرعی شده به جای ماینوسیکلین، سرم فیزیولوژیک (۲۵ mg/kg) دریافت کردند. گروه سوم، گروه کنترل (صرعی نشده) بود که فقط سرم فیزیولوژیک می‌گرفتند. موش ها پس از دوره ۱ درمان به طور عمیق بی‌هوش شدند، مخچه آن‌ها خارج شد و با روش متداول و اختصاصی با استفاده از APAF-1 (Apoptotic Peptidase Activating Factor -1) رنگ آمیزی شدند. نوروں های سالم با استفاده از تست Dunnet تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: کاهش معنی داری در میانگین تعداد نوروں های سالم پورکنز بین دو گروه صرعی شده (صرعی + ماینوسیکلین و صرعی + سرم فیزیولوژیک) نسبت به گروه کنترل (صرعی نشده) مشاهده شد ($p < 0/001$). هم چنین افزایش معنی داری در میانگین تعداد نوروں های سالم پورکنز قشر مخچه در گروه آزمایشی صرعی شده که ماینوسیکلین ۲۵ mg/kg دریافت می‌کردند نسبت به گروه صرعی شده که سرم فیزیولوژیک (۲۵ mg/kg) می‌گرفتند، دیده شد ($p < 0/001$).

استنتاج: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ماینوسیکلین نقش محافظتی بر روی نوروں های پورکنز قشر مخچه موش های صحرایی صرعی شده دارد.

واژه های کلیدی: پورکنز، مخچه، ماینوسیکلین، پنتیلین تترازول، موش صحرایی، صرع

مقدمه

کارهای ظریف و دقیق بدن نقش مهمی دارد (۱). سلول های پورکنز قشر مخچه، بزرگ ترین نوروں های

مخچه بخشی از مغز خلفی است که در حفظ تونسیته عضلانی بدن، تعادل، کنترل هیجان و انجام

E-mail: rahimgolmohammadi@yahoo.com

مؤلف مسئول: رحیم گل محمدی - سبزوار: مجتمع پردیس دانشگاه، دانشکده پزشکی

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

۲. مربی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۷/۱/۲۷ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۴/۴

نورون‌های تالاموس بعد از آسیب، نقش محافظتی مشاهده شده است (۸). تزریق سیستمیک ماینوسیکلین موجب کاهش فعالیت میکروگلیا و سایتوکین‌های التهابی در سیستم عصبی مرکزی می‌شود (۱۰،۹). گزارش‌های دیگر نشان می‌دهد که داروی ماینوسیکلین اثر ضد تشنجی دارد و این اثر مهاري را احتمالاً با توجه به اثرات تحریکی فعال‌شدن گیرنده‌های گلوتامات و فعال‌شدن گیرنده‌های گابا، موجب می‌شود؛ بدین ترتیب ماینوسیکلین زیر واحد γ_2 گیرنده $GABA_A$ را افزایش و زیر واحد NR2A را کاهش می‌دهد (۱۲،۱۱). هم‌چنین گزارش شده است که ماینوسایکلین اثر محافظتی در برابر کتامین که به عنوان یک داروی بیهوشی در مراکز درمانی استفاده می‌شود، دارد (۱۳). گزارش دیگری نشان می‌دهد که ماینوسایکلین بعد از ایسکمی نخاعی (global cerebral ischemia) در موش‌های صحرایی، به طور موضعی و عمومی، نقش محافظتی داشته است (۱۴). مطالعه Barker و همکارانش نشان می‌دهد که ماینوسیکلین در بهبودی صرع لوب تمپورال تجربی ایجاد شده نقش دارد (۱۵).

یکی از روش‌های مطالعه بافت عصبی، استفاده از روش هیستولوژی و ایمونوهیستوشیمی می‌باشد؛ ایمونوهیستوشیمی یک روش اختصاصی است که بر پایه آنتی‌ژن و آنتی‌بادی انجام می‌گیرد. این روش اختصاصی می‌تواند در فرآیند تشخیص نورون‌های طبیعی از نورون‌های آسیب دیده استفاده شد. یکی از نشانگرهایی که در بافت عصبی استفاده می‌شود، مارکر APAF-1 (Apoptotic Peptidase Activating Factor-1) است که به عنوان یک نشانگر برای تعیین نورون‌های ضایعه دیده از سالم می‌تواند کمک کننده باشد (۱۶). از آنجائی که در مورد اثر ماینوسیکلین بر روی نورون‌های پورکنژ موش‌های صحرایی صرعی شده با پنتیلین تترازول گزارشی مشاهده نشده است، لذا این مطالعه با هدف تاثیر ماینوسیکلین بر روی نورون‌های پورکنژ مخچه موش‌های صحرایی - صرعی شده با پنتیلین تترازول انجام شد.

قشر مخچه هستند که در بین لایه گرانولار در داخل و لایه مولکولار در خارج قرار گرفته‌اند و از نوروترانسمیتر گابا که نقش مهاری دارند، استفاده می‌کنند. رشته‌های عصبی (Axon) نورون‌های پورکنژ، بخشی از راه خروجی مخچه را تشکیل می‌دهند که در تنظیم اعمال مهم حرکتی نقش اصلی را دارند (۲). از طرفی صرع یکی از بیماری سیستم عصبی مرکزی است که درمان قطعی آن هنوز مشخص نیست. هرچند که داروهای ضد تشنج تا حدودی تشنجات ناشی از صرع را کنترل می‌کنند و در مواردی این داروها در کنترل درمان و پیشگیری از تشنجات صرع لوب تمپورال ناموفق هستند (۳). برای ایجاد صرع در حیوانات آزمایشگاهی، روش‌های مختلف شیمیایی، الکتریکی، هیپوکسی و ایسکمی وجود دارد (۴)، ولی مدل متداول برای ایجاد کیندلینگ یا همان صرع تجربی (Epilepsy)، روش شیمیایی است که توسط پنتیلین تترازول (PTZ) در حیوانات آزمایشگاهی قابل انجام می‌باشد (۵). بیماری صرع یکی از مشکلات نورولوژیک در جهان می‌باشد، به طوری که از هر ۱۰۰۰ نفر، ۶/۳۸ مورد به صرع مبتلا می‌شوند، به طوری که میزان شیوع صرع حدود ۵/۰ تا یک درصد از جمعیت دنیا را به خود اختصاص می‌دهد. در ایجاد صرع، فاکتورهای مختلفی از جمله استعداد خانوادگی، عفونت‌ها و عوامل توکسیک و متابولیکی نقش دارند (۶). در مورد اثرات داروها در ایجاد صرع، گزارش‌های متفاوتی مشاهده شده است، بعضی گزارش‌ها نشان می‌دهند که آزاد شدن بیش از حد سایتوکین‌های التهابی بر روی نورون‌های عصبی، اثرات توکسیک دارند و می‌توانند منجر به القاء تشنج شوند (۵). ماینوسیکلین آنتی‌بیوتیکی از دسته تتراسایکلین‌ها است که نقش ضد میکروبی و ضد التهابی دارد و به راحتی از سد خونی - مغزی (Blood brain barrier) عبور می‌کند (۷). داروی ماینوسیکلین می‌تواند اثرات سایتوکین‌های التهابی را کاهش دهد و در کاهش شدت تشنج‌های صرعی مفید و موثر باشد، به طوری که تجویز ماینوسیکلین در

مواد و روش ها

الف) - صرعی شدن موش های صحرائی و بافت شناسی عمومی
در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش صحرائی نر پس از عادت در محیط جدید، به صورت تصادفی به سه گروه ۸ تایی تقسیم شدند ($n=8$) که شامل: گروه ۱- گروه تجربی صرعی شده دریافت کننده ماینوسیکلین (شرکت سیگما، آلمان)، ۲- گروه صرعی شده دریافت کننده سرم فیزیولوژیک و ۳- گروه کنترل (سالم) بود. برای صرعی کردن موش های صحرائی، پنتیلن تترازول (PTZ) ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوم گرم وزن بدن، به میزان ۱۲ دوز به صورت روز در میان در موش های صحرائی (گروه آزمایشی ۱ و ۲) به صورت داخل صفاقی تزریق شد تا حیوان علائم صرعی شدن را به طور کامل نشان دهد (۱۷). در این مرحله، حیوان صرعی شده قادر نیست روی دو پا بایستد و تعادل خود را از دست می دهد و به زمین می افتد (۱۸). گروه اول آزمایشی، موش های صحرائی نر صرعی شده توسط ۲۵ mg/kg ماینوسیکلین به صورت داخل صفاقی به میزان ۱۲ دوز بودند (۲۰، ۱۹). در گروه دوم آزمایشی، موش های صحرائی نر صرعی شده به جای ماینوسیکلین، سرم فیزیولوژیک به میزان ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه سوم، موش های صحرائی نر سالم (صرعی نشده) بودند که سرم فیزیولوژیک به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. پس از پایان دوره درمان، موش های صحرائی نر توسط تزریق داروی بیهوشی کتامین و رامپون (۱۰۰ mg/kg، داخل صفاقی) به طور عمیق بیهوش شدند. پس از برداشتن جمجمه، مخچه حیوان با احتیاط برداشته شد و در داخل فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. بعد از پاساژ بافتی (Tissue processing)، قالب گیری در پارافین و مقطع گیری ۵ میکرونی به صورت کرونال و سریال انجام شد، مقاطع به صورت تصادفی انتخاب شدند. اسلایدها با هماتوکسیلین اتوزین رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری Motoc و نرم افزار Advanced motic plus2 با بزرگنمایی ۴۰، ۴۰۰ میدان

دید میکروسکوپی یعنی ۱۰ اسلاید از هر گروه و چهار میدان از هر اسلاید به صورت تصادفی سیستماتیک انتخاب شد و تصویر گرفته شد (۲۱). سپس شمارش نورون های سالم پورکنز از مقاطع تهیه شده از قشر مخچه گروه های مورد مطالعه (تجربی ۱ و ۲ و گروه کنترل صرعی نشده ۳) توسط دو نفر به صورت مجزا از یکدیگر (دو سوکور) به ابعاد $8 \times 8 \text{ mm}^2$ شمارش و ثبت شد (۲۲). داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) و فرمول های آماری واریانس یک طرفه با استفاده از تست Dunnet تجزیه و تحلیل شدند.

ب) ایمونوهیستوشیمی: پس از مقطع گیری ۵ میکرونی از ناحیه قشر مخچه با میکروتوم، بر روی اسلایدها رنگ آمیزی اختصاصی با استفاده از APAF-1 (Apoptotic Peptidase Activating Factor-1) انجام شد. مراحل انجام کار رنگ آمیزی اختصاصی ایمونوهیستوشیمی به طور خلاصه عبارت است و غلظت های آنتی بادی بر طبق دستور کیت انجام گرفت. برای ماسک زدایی، محل شاخص های آنتی ژنیک نمونه ها از میکروویو و بافر سترات با درجه حرارت ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد. برای مهار فعالیت اندوزناز پراکسیداز به مدت ۳۰ دقیقه در محلول ۳ درصد آب اکسیژنه قرار داده شد و مجدداً ۳ بار با بافر فسفات سالین، لام ها شستشو داده شد. آنتی بادی اولیه (Primary Specific rabbit monoclonal APAF-1 antibody) (Novocastra-Germany) پس از رقیق شدن به نسبت ۱:۵۰ روی لام ها چکانده شد و سه بار با بافر فسفات سالین (PBS) شستشو داده شد، سپس از آنتی بادی ثانویه استفاده شد (۲۳). از اسلایدها با میکروسکوپ نوری 2 Advanced motic plus تصویر گرفته شد. اسلایدها توسط دو نفر به طور جداگانه بررسی شدند (۲۱، ۲۳).

یافته ها و بحث

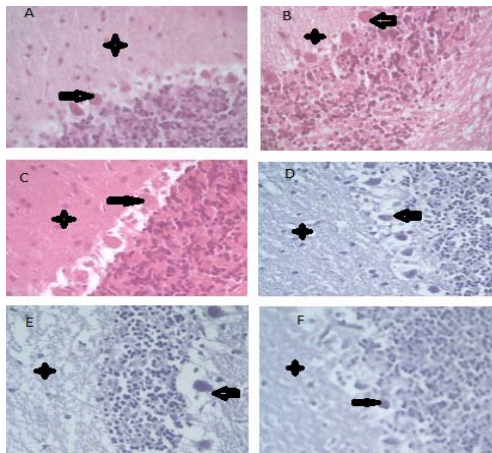
الف) - یافته های کمی نورون های پورکنز

کاهش معنی داری در میانگین تعداد نورون های

جدول شماره ۱: میانگین و خطای استاندارد در نورون های سالم سلول های پورکنژ قشر مخچه در گروه های تجربی ۱ و ۲ با گروه کنترل ۳ در موش های صحرایی نر صرعی شده و سالم

گروه	میانگین و خطای استاندارد	حد بالا	حد پایین	انحراف معیار \pm میانگین	سطح معنی داری
گروه تجربی ۱ (صرعی شده ماینوسیکلین)	۳/۶۰۶۸	۲/۹۴۲۲	۲/۱۶۴۰۳	۳/۱۷۵۰ \pm ۰/۱۶۴۰۳	
گروه تجربی ۲ (صرعی شده سرم فیزیولوژیک)	۲/۴۹۸۰	۱/۸۵۲۰	۲/۱۷۵۰	۲/۱۷۵۰ \pm ۰/۱۵۹۶۸	
گروه کنترل ۳ (صرعی نشده سرم فیزیولوژیک)*	۵/۰۰۷۰	۳/۹۹۳۰	۴/۵۰۰۰	۴/۵۰۰۰ \pm ۰/۲۵۰۶۴	۰/۰۰۱

* کاهش معنی داری در میانگین تعداد نورون های سالم پورکنژ قشر مخچه در گروه های تجربی ۱ و ۲ صرعی شده (صرعی + ماینوسیکلین و صرعی + سرم فیزیولوژیک) نسبت به گروه کنترل ۳ (صرعی نشده) مشاهده شد ($p < 0/001$). تست Dunnett.



تصویر شماره ۱: مقطع ۵ میکرونی کرونال از قشر مخچه موش های صحرایی نر صرعی شده با پنتیلین ترازول. شکل A- مربوط به گروهی از موش های صحرایی صرعی نشده است که سرم فیزیولوژیک دریافت می کردند. پیکان، سلول های پورکنژ مخچه را نشان می دهد. شکل B- مربوط به موش های صحرایی صرعی شده است که ماینوسیکلین (۲۵ mg/kg) دریافت کرده اند. پیکان، سلول پورکنژ مخچه را نشان می دهد. شکل C- مربوط به گروهی از موش های صحرایی صرعی شده است که سرم فیزیولوژیک دریافت کردند. پیکان، سلول پورکنژ با اسیدوفیلی بالای سیتوپلاسم را نشان می دهد. شکل D- نورون های پورکنژ موش های صحرایی نر گروه صرعی نشده که سرم فیزیولوژیک دریافت می کردند، را نشان می دهد. شکل E- مربوط به گروهی از موش های صحرایی است که ماینوسیکلین (۲۵ mg/kg) دریافت می کردند. شکل E- مربوط به موش های صحرایی صرعی شده است که سرم فیزیولوژیک دریافت می کردند. پیکان، نورون های پورکنژ را نشان می دهد، محدوده هسته از سیتوپلاسم مشخص نیست. علامت ستاره، لایه گرانولار مخچه را نشان می دهد (تصاویر E، D و F- با روش اختصاصی APAF-1 (Apoptotic Peptidase Activating Factor-1) رنگ آمیزی شده اند. (بزرگنمایی ۴۰۰).

سالم پورکنژ قشر مخچه در گروه تجربی ۱ و ۲ یعنی دو گروه صرعی شده (صرعی + ماینوسیکلین و صرعی + سرم فیزیولوژیک) نسبت به گروه سوم کنترل (صرعی نشده) مشاهده شد، به طوری که این تغییرات از نظر آماری معنی دار بود ($p < 0/001$). افزایش میانگین تعداد نورون های سالم پورکنژ قشر مخچه در گروه تجربی صرعی شده که ماینوسیکلین ۲۵ mg/kg دریافت می کردند، نسبت به گروه صرعی شده که به جای ماینوسیکلین، سرم فیزیولوژیک دریافت می کردند (۲۵ mg/kg) دیده شد. این تغییرات از نظر آنالیز واریانس یک طرفه، معنی دار بود ($p < 0/01$) (جدول شماره ۱).

ب) یافته های بافتی نورون های پورکنژ

تغییرات مورفولوژیک نورون های پورکنژ مانند مشخص نبودن محدوده هسته از سیتوپلاسم و متراکم شدن هسته و شکل غیر طبیعی نورون های پورکنژ و هم چنین اسیدوفیلی سیتوپلاسم در موش های صحرایی نر گروه های صرعی شده (صرعی + ماینوسیکلین و صرعی + سرم فیزیولوژیک) نسبت به گروه صرعی نشده (کنترل) در مقاطع تهیه شده از قشر مخچه در نورون های پورکنژ مشاهده شد (تصویر شماره ۱).

در مطالعه حاضر، کاهش معنی داری در میانگین تعداد نورون های سالم پورکنژ قشر مخچه در دو گروه صرعی شده نسبت به گروه صرعی نشده مشاهده شد. مطالعه Lu و همکارانش نشان می دهد که ماینوسیکلین برای نورون ها و سلول های بنیادی آن ها (Neural Stem Cell)، اثر محافظتی در برابر کتامین که به عنوان یک داروی بیهوشی استفاده می شود، دارد (۱۳). نتایج این مطالعه با تحقیق فوق همخوانی دارد، هر چند نوع مطالعه با پژوهش فوق تفاوت دارد، زیرا در مطالعه حاضر، اثر ماینوسیکلین بر روی نورون های پورکنژ مخچه موش های صحرایی نر صرعی شده انجام شده است، در حالی که در مطالعه Lu و همکارانش، اثر ماینوسیکلین بر روی سلول های بنیادی عصبی موش های صحرایی صرعی نشده تحت تاثیر کتامین

انجام شده است. گزارش‌های دیگر نیز نشان می‌دهند که ماینوسیکلین اثر محافظتی خود را بر روی سلول‌های عصبی از طریق بهبود عملکرد سلول‌های میکروگلیا، متعاقب حمله ایسکمی تجربی بر روی سلول‌های بنیادی عصبی به انجام می‌رساند (۲۴). گزارشات دیگر نشان می‌دهد که عصاره شوید و ویتامین C، نقش محافظتی بر روی ساختار بافتی نورون‌های پورکنز مخچه و نورون‌های هیپوکامپ مغزی دارند (۱۷، ۱۸).

در مطالعه حاضر، میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنز در گروه‌های تجربی یک و دو صرعی شده، کم‌تر از گروه صرعی نشده (سالم) بود، به طوری که این ارتباط از نظر آماری معنی‌دار بود. این نتیجه می‌تواند بیان‌کننده این واقعیت باشد که نورون‌های پورکنز مخچه موش‌های صحرایی تحت تاثیر کیندلینگ تجربی (صرع) ناشی از پنتیلین تترازول (PTZ) قرار می‌گیرند و احتمالاً آسیب می‌بینند. بعضی گزارش‌های دیگر نشان می‌دهد که تزریق PTZ در موش‌های سوری که به منظور کیندل شدن (صرعی شدن) استفاده می‌شود، موجب از بین رفتن حافظه در موش‌ها شده است (۲۵). بیماری‌های مختلفی از جمله آلزایمر، مالتیل اسکروز و صرع می‌توانند ناشی از آسیب نورونی (neurodegenerative) به وجود آیند، به عبارتی دیگر می‌توان گفت که آسیب نورونی در بافت سیستم عصبی مرکزی (Central Nerve System)،

بیماری‌های فوق را موجب می‌شوند (۲۶).

در مطالعه حاضر، در گروه تجربی صرعی شده که ماینوسیکلین دریافت می‌کردند نسبت به گروه آزمایشی صرعی شده که سرم فیزیولوژیک می‌گرفتند، میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنز بیش‌تر بود که می‌تواند مربوط به اثر محافظتی تاثیر ماینوسیکلین بر روی نورون پورکنز مخچه موش‌های صحرایی نر صرعی شده توسط PTZ باشد. پیشنهاد می‌شود بررسی بیش‌تری در زمینه تاثیر ماینوسیکلین در حیوانات صرعی شده که در فرآیند مرگ فیزیولوژی (Program cell death) و یا افزایش طول بقا مشارکت دارند (۲۷، ۲۸)، در حیوانات صرعی شده با PTZ انجام شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ماینوسیکلین می‌تواند نقش محافظتی بر روی نورون‌های پورکنز قشر مخچه موش‌های صحرایی صرعی شده که توسط داروی پنتیلین تترازول (PTZ) ایجاد می‌شود، داشته باشد.

سپاسگزاری

با تقدیر و تشکر از شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار به خاطر تصویب و تامین هزینه‌های طرح، هم‌چنین آقای دکتر حسن رخشانی دکترای آمار، کارشناس‌های آزمایشگاه خانم‌ها لندران و محمودی به خاطر انجام بخشی از کارهای بافت‌شناسی و رنگ‌آمیزی اختصاصی، تشکر می‌شود.

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; 46(7): 845-857.
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: 273-288.
3. Hsu WW, Sing CW, He Y, Worsley AJ, Wong IC. Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of perampanel in the treatment of partial-onset epilepsy. *CNS Drugs* 2013; 27(10): 817-827.
4. Nirwan N, Vyas P, Vohora D. Animal models of status epilepticus and temporal lobe epilepsy: a narrative review. *Arch Clin Neuropsychol* 2018; 33(3): 354-364.
5. Allan SM, Rothwell NJ. Cytokines and acute neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2(10): 734-744.

6. Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, Patten SB, Kwon CS, Dykeman J, et al. Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology* 2017; 88(3): 296-303.
7. Nagel S, Su Y, Horstmann S, Heiland S, Gardner H, Koziol J, et al. Minocycline and hypothermia for reperfusion injury after focal cerebral ischemia in the rat: effects on BBB breakdown and MMP expression in the acute and subacute phase. *Brain Res* 2008; 1188: 198-206.
8. Simon DW, Aneja RK, Alexander H, Bell MJ, Bayir H, Kochanek PM, et al. Minocycline Attenuates High Mobility Group Box 1 Translocation, Microglial Activation, and Thalamic Neurodegeneration after Traumatic Brain Injury in Postnatal Day 17 Rats. *J Neurotrauma* 2017; 35(1): 130-138.
9. Vay SU, Blaschke S, Klein R, Fink GR, Schroeter M, Rueger MA. Minocycline mitigates the gliogenic effects of proinflammatory cytokines on neural stem cells. *J Neurosci Res* 2016; 94(2): 149-160.
10. Liu X, Su H, Chu TH, Guo A, Wu W. Minocycline inhibited the pro-apoptotic effect of microglia on neural progenitor cells and protected their neuronal differentiation in vitro. *Neurosci Lett* 2013; 542: 30-36.
11. Kosarmadar N, Ghasemzadeh Z, Rezayof A. Inhibition of microglia in the basolateral amygdala enhanced morphine-induced antinociception: Possible role of GABAA receptors. *Eur J Pharmacol* 2015; 765: 157-163.
12. Ahmadirad N, Shojaei A, Javan M, Pourgholami MH, Mirnajafi-Zadeh. Effect of minocycline on pentylenetetrazol-induced chemical kindled seizures in mice. *Neurol Sci* 2014; 35(4): 571-576.
13. Lu Y, Lei S, Wang N, Lu P, Li W, Zheng J, et al. Protective Effect of Minocycline Against Ketamine-Induced Injury in Neural Stem Cell: Involvement of PI3K/Akt and Gsk-3 Beta Pathway. *Front Mol Neurosci* 2016; 9: 135.
14. Takeda M, Kawaguchi M, Kumatoriya T, Horiuchi T, Watanabe K, Inoue S, et al. Effects of minocycline on hind-limb motor function and gray and white matter injury after spinal cord ischemia in rats. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2011; 36(23): 1919-1924.
15. Barker-Haliski ML, Heck TD, Dahle EJ, Vanegas F, Pruess TH, Wilcox KS, et al. Acute treatment with minocycline, but not valproic acid, improves long-term behavioral outcomes in the Theiler's virus model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2016; 57(12): 1958-1967.
16. Sancho M, Herrera AE, Gortat A, Carbajo RJ, Pineda-Lucena A, Orzáez M, et al. Minocycline inhibits cell death and decreases mutant Huntingtin aggregation by targeting Apaf-1. *Hum Mol Genet* 2011; 20(18): 3545-3553.
17. Golmohammadi R, Kamalimanesh B. Protective Effect of Ascorbic Acid on Histology of Purkinje Neurons of Cerebellum in Pentylentetrazol-induced Epileptic Rats. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2015; 25(123): 45-53 (Persian).
18. Golmohammadi R, Sabaghzadeh F, Mojadadi MS. Effect of hydroalcoholic extract of *Anethum graveolens* leaves on the dentate gyrus of the hippocampus in the epileptic mice: a histopathological and immunohistochemical study. *Res Pharm Sci* 2016; 11(3): 227-232.
19. Henry CJ, Huang Y, Wynne A, Hanke M, Himler J, Bailey MT, et al. Minocycline attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced

- neuroinflammation, sickness behavior, and anhedonia. *J Neuroinflammation* 2008; 5: 15.
20. Liu Z, Fan Y, Won SJ, Neumann M, Hu D, Zhou L, et al. Chronic treatment with minocycline preserves adult new neurons and reduces functional impairment after focal cerebral ischemia. *Stroke* 2007; 38(1): 146-152.
21. 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 School* 2015; 32(319): 2411-2420 (Persian).
22. 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. *Neurol Sci* 2013; 34(7): 1125-1131.
23. Shakeri R, Kheirollahi A, Davoodi J. Apaf-1: Regulation and function in cell death. *Biochimie* 2017; 135: 111-125.
24. Rueger MA, Muesken S, Walberer M, Jantzen SU, Schnakenburg K, Backes H, et al. Effects of minocycline on endogenous neural stem cells after experimental stroke. *Neuroscience* 2012; 215: 174-183.
25. Takechi K, Suemaru K, Kawasaki H, Araki H. Impaired memory following repeated pentylenetetrazol treatments in kindled mice. *Yakugaku Zasshi* 2012; 132(2): 179-182.
26. Girolamo F, Coppola C, Ribatti D. Immunoregulatory effect of mast cells influenced by microbes in neurodegenerative diseases. *Brain Behav Immun* 2017; 65: 68-89.
27. Golmohammadi R, Rakhshani MH, Moslem AR, Pejhan A. Prognostic Role of PTEN Gene Expression and Length of Survival of Breast Cancer Patients in the North East of Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016; 17(S3): 305-39.
- Dastjerdi28- 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.