

دو فصلنامه‌ی هیستولوژی دامپزشکی

دوره نهم، شماره یکم، بهار و تابستان ۱۴۰۰

مطالعه تغییرات بافت مخچه به دنبال القاء پیری در موش سوری توسط دی-گالاکتوز

اثلیار عظیمی زنگ آباد^۱، نیما عباس پور^۲

۱- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۲- باشگاه پژوهشگران جوان، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

چکیده

مخچه ناحیه مهمی از مغز خلفی است که نقش اصلی در تعادل، کنترل هیجانات و اعمال ظریف و دقیق دارد. در مطالعات، نشان داده شده است که استفاده طولانی مدت از دی گالاکتوز در موش باعث اختلالات مورفولوژیکی و کاربردی در مغز مشابه علائم پیری طبیعی می‌شود. هدف از این مطالعه به منظور بررسی تغییرات احتمالی بافت قشر مخچه، سنجش ROS گونه‌های اکسیژن فعال در بافت مخچه، بدنبال القاء پیری در موش سوری توسط دی-گالاکتوز بود. با توجه به هدف پژوهش، مدلسازی سالمندی بر روی موش‌های سوری اجرا شد. بر این اساس آزمودنی‌ها به طور تصادفی در قالب ۲ گروه شامل کنترل + سالین (S+C) و گروه پیری (دی گالاکتوز) برای ایجاد مدل سالمندی، از دی گالاکتوز استفاده شد. نمونه‌های مخچه بعد از انجام مراحل آماده سازی و پاساژ بافتی، مقاطع با ضخامت ۵ میکرون برش داده شدند و به روش هماتوکسیلین-اؤزین رنگ آمیزی شد و در نهایت زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. متغیرهای کمی با آزمون آماری T-Test و با استفاده از نرم‌فزار SPSS ارزیابی و آنالیز شد. در مشاهدات انجام شده از نمونه‌های بافتی مخچه گروه القاء شده پیری توسط D-گالاکتوز بیشترین تغییرات را در طبقه سلول‌های پورکنز از خود نشان دادند. به طوری که آرایش و نظم قرارگیری این سلول‌ها بهم خورده بود. موقعیت قرارگیری هسته‌ها در سلول وضعیت مرکزی نداشت. سلول‌های پورکنز تحت القاء پیری به اشکال مورفولوژیکی متفاوتی دیده شدند. نکروزیس، کروماتولیز و پیکنوزیس دیده شد. براساس نتایج بدست آمده دی گالاکتوز (القاء پیری) موجب تغییرات پاتولوژیکی در قشر مخچه به ویژه طبقه پورکنز شد.

کلمات کلیدی: دی گالاکتوز، مخچه، پیری، موش سوری، استرس اکسیداتیو.

مقدمه

پیری یک پدیده پیشرونده، وابسته به زمان و پیچیده است که منجر به از دست دادن عملکرد سلولی، مولکول و فیزیولوژیک می شود [1] که با این اوصاف سبب کاهش عملکرد و افزایش مورتالیتی می گردد. در سال های اخیر پژوهش در زمینه ی پیری مورد توجه قرار گرفته است. یکی از جنبه های مهم این زمینه، پیری مغز است که می تواند توسط اختلال رفتاری مانند اضطراب و زوال شناختی آشکار شود [2]. کاملاً ثابت شده است که تولید بیش از حد رادیکال های آزاد مانند گونه های واکنش اکسیژن (ROS) منجر به استرس اکسیداتیو می شود که منجر به پیری و اختلالات مربوط به پیری می شود [3]. علاوه بر این، سلول های عصبی مغز به دلیل وجود چربی زیاد و مصرف اکسیژن، بیشتر در معرض استرس اکسیداتیو قرار دارند (9). سطح و فعالیت آنزیم های مختلف آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در دوران پیری کاهش می یابد [5]. از طرف دیگر، سطح فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF)، که یک واسطه مهم برای تکثیر و یک پارچگی عصبی است، با افزایش سن کاهش می یابد [6].

پیری ناشی از دی-گالاکتوز (D-gal) الگوی ثابت شده ای برای مطالعات دارویی تغییرات مربوط به پیری است. این مدل

توسط Xu در سال ۱۹۸۵ گزارش شد. وی علائم قابل توجهی از پیری را پس از ۸ هفته استفاده از D-gal در موش های ICR (انستیتیوی تحقیقات سرطان) یافت. دی-گالاکتوز در سطوح بالا، از طریق تجمع ROS باعث استرس اکسیداتیو می شود. تولید رادیکال های آزاد را تحریک می کند و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان را مختل می کند [3,7]. آسیب اکسیداتیو و التهاب هر دو نقش مهمی در ایجاد تغییرات مربوط به پیری در اندام های مختلف مانند مغز، عضله و کلیه دارند [8]. هدف از این مطالعه، بررسی تغییرات هیستوپاتولوژی احتمالی بافت مخچه و سنجش ROS گونه های فعال اکسیژن در بافت مخچه، به دنبال القاء پیری در موش سوری توسط دی-گالاکتوز بود.

مواد و روش کار

۲۴ راس موش سوری نر بالغ با میانگین وزن اولیه ۳۰-۲۵ گرم از مرکز انستیتو پاستور تهیه شدند. از آنجایی که انتقال حیوانات باعث القای استرس به آن ها و در نتیجه تأثیر بر نتایج آزمایش می شد، حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه ابتدا به مدت دو هفته تحت شرایط جدید نگهداری شدند و سپس با توجه به هدف پژوهش، مدل سازی سالمندی بر روی تمامی آن ها اجرا شد.

قطرسلول‌های پورکنژ، ضخامت لایه مولکولر و ضخامت لایه گرانولر در این مطالعه مدنظر قرار گرفته شد.

برای سنجش میزان فعالیت ROS (گونه‌های اکسیژن فعال)، از کیت پراکسیداسیون لیپید (ساخت شرکت نوند سلامت) استفاده شد. متغیرهای کمی با آزمون آماری T-Test و با استفاده از نرم افزار SPSS ارزیابی و آنالیز شد و سطح معنی داری آزمون ها $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج بافت شناسی:

در مشاهدات انجام شده از قشر مخچه گروه نرمال، ۳ لایه بافتی قابل تفکیک بود. خارجی‌ترین لایه طبقه مولکولر (ذره‌ای) می‌باشد. این طبقه زیر میکروسکوپ با رنگ‌پذیری قرمز کم‌رنگ در زیر لایه نرم شامه قابل شناسایی بود. در این طبقه علاوه بر داربست رشته‌های عصبی، حاوی نورون‌های عصبی نیز بود. در ناحیه سطحی این حلقه سلول‌های ستاره‌ای شکل موسوم به سلول‌های دسته II گلژی دیده شدند. در عمق این طبقه سلول‌های سبکی شکل با تجمع دندریتها قابل رویت بود (تصویر شماره ۱).

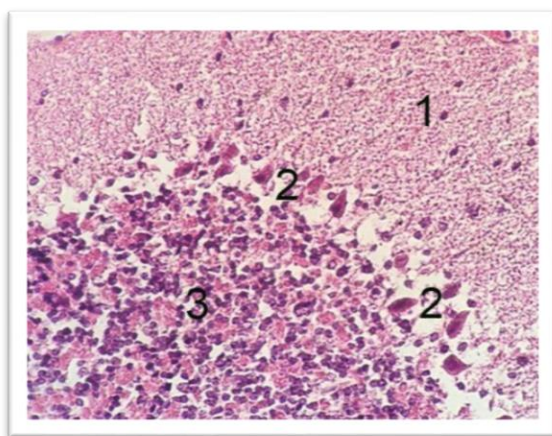
در گروه نرمال طبقه پورکنژ که شامل یک ردیف سلول مجزا و منفرد از سلول‌های پورکنژ بود، با فواصل نزدیک از هم به شکل مخروطی قرار گرفته بودند. رأس مخروطی این سلول‌ها به سمت محیط بود، به‌طوری که از رأس این سلول‌ها دندریتها متعددی منشعب می‌شود. سلول‌های پورکنژ

بر این اساس موش‌های سوری بعد از سازش‌پذیری به طور تصادفی در قالب ۲ گروه شامل گروه نرمال و گروه پیری (دی-گالاکتوز) قرار گرفتند (در هر گروه ۱۲ راس موش سوری قرار گرفت).

برای ایجاد مدل پیری، از دی-گالاکتوز (St. Louis, Co Aldrich-Sigma, MO, USA) استفاده شد. به همین منظور این محلول روزانه به مقدار $10 \times \frac{mg}{Kg}$ ، به صورت داخل صفاقی و به مدت ۸ هفته تجویز گردید (10). هر گروه شامل ۱۲ سر موش سوری بالغ بود که در قفس پلی‌کربنات شفاف و در محیطی با دمای $20^{\circ}C$ تا $24^{\circ}C$ و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته، نگهداری شدند. در طی دوره مطالعه، موش‌های مورد مطالعه از غذای استاندارد پلت تجاری استفاده کردند که به صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار گرفت بود. همچنین آب مورد نیاز حیوانات نیز به صورت آزاد و از طریق بطری‌های ۵۰۰ ml ویژه حیوانات آزمایشگاهی، در دسترس آزمودنی‌ها قرار داده شد. کلیه اصول اخلاقی پژوهش کنونی، مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. در پایان دوره القا پیری در موش‌ها، مخچه هر کدام از نمونه‌ها جدا شدند. ابتدا مخچه‌ها در محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد جهت تثبیت قرار داده شدند. بعد از عمل فیکساسیون، مراحل آماده سازی و پاساژ بافتی صورت گرفت و در نهایت قالب‌های پارافینی برش ۵ میکرونی داده شدند و به روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی شدند. اندازه‌گیری ارتفاع و

شدند. یک سری از این سلول‌ها با عدم رنگ‌پذیری هسته (محو شدن هسته) دیده شدند، به‌طوری که هسته از سیتوپلاسم قابل تفکیک نبود، که این نشان از وقوع نکروز بود (تصویر شماره ۲).

در برخی از این سلول‌ها، هسته متراکم و چروکیده دیده شد که نشان از وقوع آسیب سلولی پیکنوزیس بود.

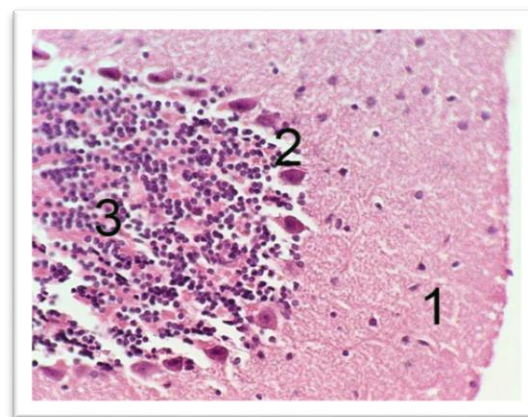


تصویر ۲- نمای میکروسکوپی از مقطع بافت مخچه گروه بیمار شده با دی گالاکتوز (رنگ آمیزی H&E بزرگنمایی $\times 400$ برابر)

به‌هم خوردن مورفولوژی پورکنز با آتروفی شدن سلول دیده شد. به‌طوری که آتروفی سلول باعث بد شکلی سلول (چروکیدگی) و موقعیت راس مخروطی پورکنز با حضور دندریت‌ها قابل شناسایی نشد (تصویر شماره ۲). در برخی از سلول‌های پورکنز هسته منظره قطعه قطعه (سگمانتاسیون) پیدا کرده بود که حاکی از وقوع مرگ بود (تصویر شماره ۲). کاهش تراکم سلول‌های پورکنز در مقایسه با نمونه گروه نرمال قابل مشهود بود (تصویر شماره ۲). در بررسی طبقه لایه مولکولر، کاهش تراکم سلول‌ها نسبت به گروه نرمال دیده شد و سلول‌های

واضح‌ترین و بزرگترین سلول‌های قشر مخچه محسوب می‌شوند و به تغییرات ایجاد شده بسیار حساس می‌باشند. از ویژگی‌های این سلول‌ها، هسته مرکزی گرد، درشت با هستک واضح و سیتوپلاسمی اسیدوفیلی می‌باشند که با این ویژگی قابل شناسایی بودند (تصویر شماره ۱).

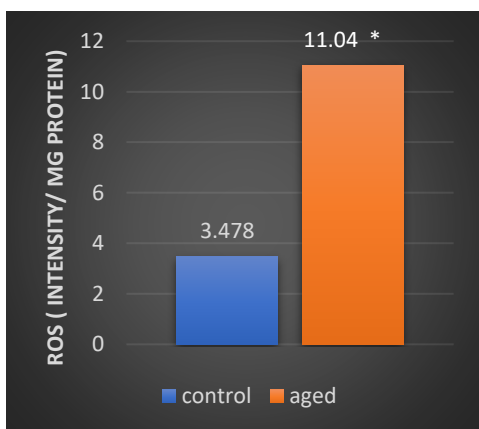
در طبقه سوم این قشر مخچه (گروه نرمال)، طبقه گرانولو (دانه‌دار) بود که در عمق قشر مخچه قرار داشت. از ویژگی این سلول‌ها می‌توان به سلول‌های هسته‌ای بنفش رنگ و مدور با سیتوپلاسم بسیار کم اشاره کرد که با این ویژگی‌ها قابل شناسایی بودند (تصویر شماره ۱).



تصویر ۱- نمای میکروسکوپی از مقطع بافت مخچه گروه نرمال (رنگ آمیزی H&E بزرگنمایی $\times 100$ عدسی)

در مشاهدات انجام شده از نمونه‌های بافتی مخچه گروه القاء شده پیری توسط D-گالاکتوز، بیشترین تغییرات در طبقه سلول‌های پورکنز مشاهده شد. به‌طوری که آرایش و نظم قرارگیری این سلول‌ها بهم خورده بود. موقعیت قرارگیری هسته‌ها در داخل سلول وضعیت مرکزی نداشت. سلول‌های پورکنز تحت القاء پیری، به اشکال مورفولوژیکی متفاوتی دیده

در گروه نرمال 0.318 ± 3.478 ، در گروه تیمار شده با دی-گالاکتوز 11.04 ± 0.85 بدست آمد. اعداد بدست آمده اختلاف معنی داری بین دو گروه وجود داشت ($p < 0.01$). جدول ۱ و نمودار ۱.



نمودار ۱-نمودار میانگین سنجش ROS در گروه نرمال و گروه تیمار شده با دی-گالاکتوز

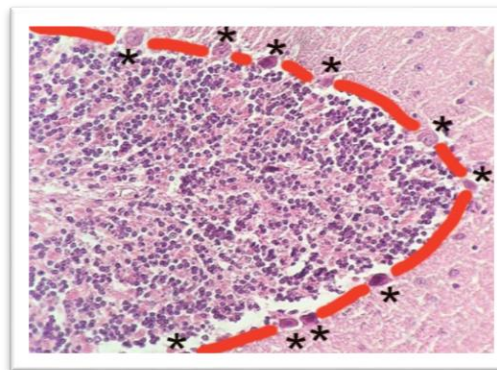
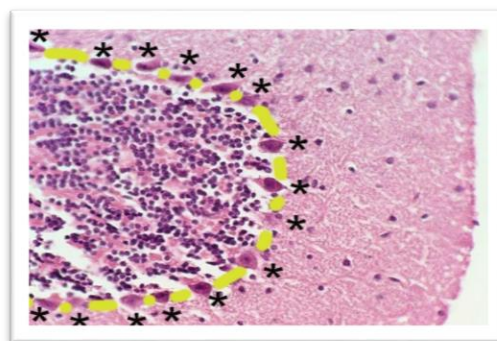
نتایج مربوط به میانگین ضخامت لایه گرانولر از قشر مخچه:

در گروه نرمال $10.11 \pm 11.5/8$ و در گروه تیمار شده با دی-گالاکتوز 9.61 ± 8.06 بدست آمد. در اعداد بدست آمده اختلاف معنی داری بین دو گروه وجود داشت ($P < 0.01$). جدول ۱ و نمودار ۲.

آنتروگلیای این طبقه در گروه القاء نشده پیری با کاهش رنگ پذیری (کروماتولیز) همراه بود (تصویر شماره ۲).

در طبقه گرانولر، گروه القاء نشده پیری در مقایسه با گروه نرمال تغییرات بافتی تشخیص داده نشد.

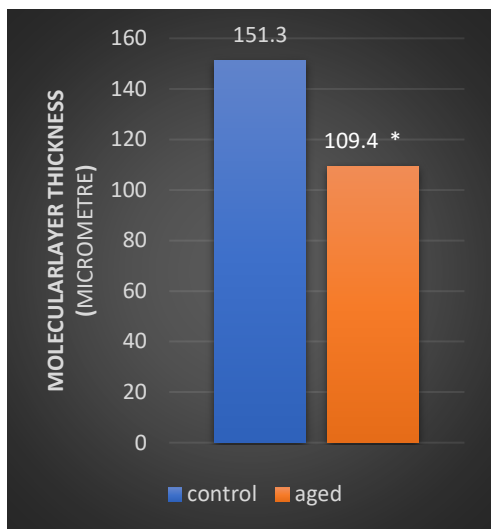
در گروه تیمار شده با دی-گالاکتوز تعداد سلول های پورکنژ کاهش یافته بود و فاصله سلول های پورکنژ نسبت به گروه نرمال افزایش یافته بود (تصویر شماره ۳ و ۴).



تصویر ۳-۴ نمای میکروسکوپی از مقطع بافت مخچه- تصویر بالا گروه نرمال تصویر پایین گروه تیمار شده با دی گالاکتوز

* سلول های پورکنژ. خط ممتد: فاصله سلول های پورکنژ

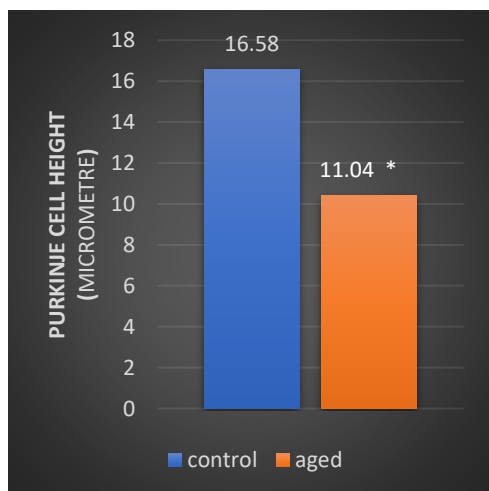
نتایج مربوط به میانگین گونه فعال اکسیژن ROS



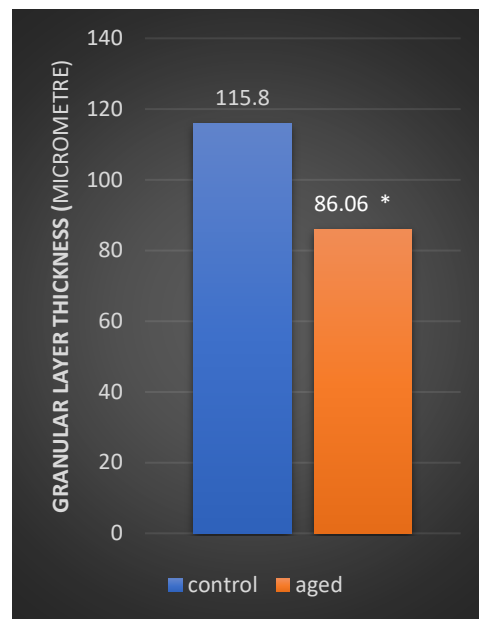
نمودار ۳- نمودار میانگین ضخامت لایه مولکولر در گروه نرمال و تیمار شده با دی-گالاکتوز

نتایج مربوط به میانگین ارتفاع سلول‌های پورکنز از قشر مخچه:

در گروه نرمال $16/58 \pm 1/33$ و در گروه تیمار شده با دی-گالاکتوز $10/41 \pm 2/02$ بدست آمد. اعداد بدست آمده اختلاف معنی‌داری بین دو گروه وجود داشت ($P < 0/01$). جدول ۱ و نمودار ۴.



نمودار ۴- میانگین ارتفاع سلول‌های پورکنز در گروه نرمال و گروه تیمار شده با دی-گالاکتوز



نمودار ۲- میانگین ضخامت لایه گرانولر در گروه نرمال و تیمار شده با دی-گالاکتوز

نتایج مربوط به میانگین ضخامت لایه مولکولر از قشر مخچه:

در گروه نرمال $115/8 \pm 14/94$ و در گروه تیمار شده با دی-گالاکتوز $86/06 \pm 13/82$ بدست آمد. اعداد بدست آمده اختلاف معنی‌داری بین دو گروه وجود داشت ($P < 0/01$). جدول ۱ و نمودار ۳.

ارتفاع سلول پورکنژ (میکرون)	۱۶/۵۸ ± ۳/۳۳	۱۰/۲ ± ۴۱/۰۳*
پهنای سلول پورکنژ (میکرون)	۱۰/۸ ± ۱/۰۶۷	۸/۷۱۳ ± ۱/۳۱۳*

جدول ۱- مقایسه میانگین Mean±SD پارامترهای کمی در گروه‌های نرمال و تیمار شده با دی گالاکتوز

* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد (p<۰/۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری

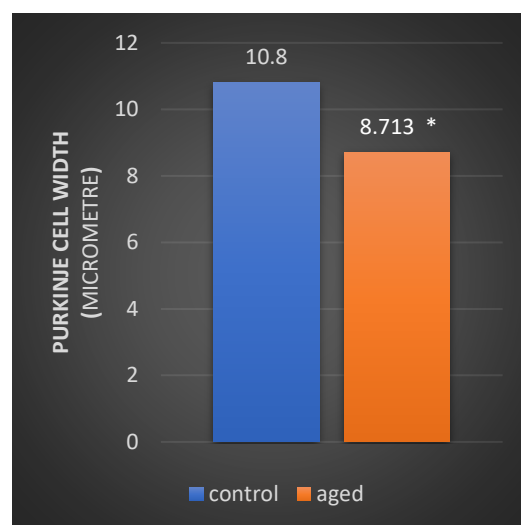
پیری یک فرایند وابسته به زمان و پیچیده است که منجر به از دست دادن عملکرد سلولی، مولکول و فیزیولوژیک می‌شود [1]. که با این اوصاف سبب کاهش عملکرد و افزایش مورتالیتی می‌گردد. در سال‌های اخیر پژوهش در زمینه‌ی پیری مورد توجه قرار گرفته است که یکی از جنبه‌های مهم این زمینه، پیری مغز است که می‌تواند توسط اختلال رفتاری مانند اضطراب و زوال شناختی آشکار شود [2]. که با کاهش فعالیت آنزیم‌های زنجیره تنفسی و کاهش تولید ATP^۱ و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و جهش در اسید دئوکسی ریبونوکلیک میتوکندری (DNA^۲) و اختلال در ساختارهای میتوکندری مشخص می‌شود [3,9].

گونه‌های اکسیژن فعال در فرایندهای مختلف مانند رشد سلول، مسیرهای سیگنالینگ، سنتز مولکول‌های بیولوژی، پاسخ ایمنی و فشار خون ایفای نقش می‌کنند. گونه‌های اکسیژن فعال می‌توانند از منابع داخلی مانند میتوکندری،

نتایج مربوط به میانگین پهنای سلول‌های پورکنژ از قشر مخچه:

در گروه نرمال ۱۰/۸ ± ۱/۰۶۷ و در گروه تیمار شده با دی-گالاکتوز ۸/۷۱۳ ± ۱/۳۱۳ بدست آمد. اعداد بدست آمده اختلاف معنی‌داری بین دو گروه وجود داشت (p<۰/۰۱).

جدول ۱ و نمودار ۵.



نمودار ۵- میانگین پهنای سلول‌های پورکنژ در گروه نرمال و گروه تیمار شده با دی-گالاکتوز

متغیر	گروه نرمال Mean±SD	گروه تیمار شده با دی- گالاکتوز Mean±SD
ROS گونه فعال اکسیژن (mg protein)	۳/۴۷۸ ± ۰/۳۱۸	۱۱/۰۴ ± ۰/۸۵ *
ضخامت لایه گرانولر (میکرون)	۱۱۵/۸ ± ۱۰/۱۱	۸۶/۰۶ ± ۹/۶۱*
ضخامت لایه مولکولر (میکرون)	۱۵۱/۳ ± ۱۴/۹۶	۱۰۹/۴ ± ۱۳/۸۲*

نورولوژیک و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد [13].

مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که دی-گالاکتوز در بافت عصبی با افزایش استرس اکسیداتیو موجب تغییرات مورفولوژیک و کاربردی در مغز مشابه علائم تغییرات مورفولوژی پیری طبیعی می‌گردد [14,15,16,17].

در مطالعات al., 2006; Marosi et al., 2012; Gu et al., 2013. Cui et al. بیان شده است که دی-گالاکتوز در بافت عصبی باعث افزایش استرس اکسیداتیو و مختل شدن تعادل انتقال عصبی می‌گردد [15,16,18].

در مطالعه Lee و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان داده شد که تزریق طولانی مدت محلول دی-گالاکتوز موجب آسیب اکسیداتیو، از دست دادن حافظه و به طور کلی یک فرایند شبیه به سالمندی طبیعی در موش‌های صحرایی می‌شود. بر این اساس از جوندگانی که تحت تزریق طولانی مدت دی-گالاکتوز قرار گرفته‌اند، به عنوان یک مدل سالمندی حیوانات، برای پژوهش‌های ضد پیری استفاده می‌شود [19].

مخچه ناحیه مهمی از مغز خلفی است که نقش اصلی در تعادل، کنترل هیجانات و اعمال ظریف و دقیق را دارد. این قسمت از مغز هم در طی روند پیری تحت تاثیر قرار گرفته و دچار تغییراتی می‌شود که با کاهش انجام اعمال ظریف و از دست رفتن تعادل آشکار می‌گردد. طی مطالعه که Ogata و همکاران در سال ۱۹۸۴ انجام دادند، نشان داد که حجم

ماکروفاژ، پراکسی‌زوم و غشای پلاسمایی و منبع خارجی مانند برخی مواد شیمیایی، داروها و استرس‌ها ایجاد کردند [10]

درون سلول‌ها سیستم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی جهت جلوگیری از استرس اکسیداتیو وجود دارند. در شرایط فیزیولوژیکی، سطح شکل‌گیری ROS در تعادل با ظرفیت آنتی‌اکسیدان سلول می‌باشد. در صورتی که سلول به مدت طولانی در معرض استرس‌های محیطی قرار بگیرد و یا در فعالیت دفاعی آنتی‌اکسیدان بدن اختلالی ایجاد شود، این تعادل به هم می‌خورد و سطح شکل‌گیری ROS بیش‌تر از ظرفیت آنتی‌اکسیدان بدن خواهد بود. نتیجه‌ی چنین حالتی باعث ایجاد استرس اکسیداتیو خواهد شد [9,11].

در نتایج تحقیق Parameshwaran و همکاران نشان داده شده است که پیری طبیعی با کاهش تدریجی عملکرد شناختی و حرکتی همراه است. پاتولوژی بیماری معمولاً شامل فرآیندهای رایج آسیب، از جمله اختلالات در عملکرد میتوکندری می‌باشد. به نظر می‌رسد اختلال عملکرد میتوکندریایی با کاهش فسفوریلاسیون اکسیداتیو و افزایش تولید نسبی رادیکال‌های اکسیژن (ROS) از علائم شروع پیری هست [12].

نتایج تحقیق Xu songa و همکاران در سال ۱۹۹۹ که برای اولین بار در چین گزارش شد، اشاره به این داشت که تزریق D- گالاکتوز باعث ایجاد تغییراتی می‌شود که شبیه به پیری زود هنگام است. مدل پیری ایجاد شده، حاکی از اختلال

کمتر از گروه نرمال بود که با نتایج سایر مطالعات انجام شده در حیوانات با سن بالا (پیری فیزیولوژیکی) مطابقت دارد.

از نتایج میکروسکوپی در مطالعه حاضر وقوع آتروفی، نکروز سلولی و مرگ سلولی در سلول‌های پورکنز بویا کروماتولیز در سول‌های مولکولر قشر مخچه به دنبال القا پیری توسط دی-گالاکتوز مشاهده شد که با روند اختلالات مخچه در پیری فیزیولوژیک پستانداران همخوانی داشت.

به طور خلاصه داروی دی-گالاکتوز که به عنوان القا پیری در مدل حیوانی مطرح شده است می‌تواند روند پیری در بافت قشر مخچه را با ایجاد آتروفی سلولی، نکروزیس، آپوپتوزیس و همچنین افزایش گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد نماید.

سلول‌های پورکنز در موش صحرایی ۱۸، ۲۴ و ۳۰ ماهه به طور معنی‌داری در مقایسه با موش‌های همتای ۳ ماهه، کاهش می‌یابد [20].

Sturrock و همکاران در سال ۱۹۸۹ نشان دادند که پیری باعث تغییراتی در بافت مخچه می‌شود و موجب از دست رفتن ۴۴٪ از سلول‌های پورکنز در میمون می‌شود، در مطالعه Sturrock نسبت سلول‌های قشر مخچه موش‌های سوری از ۶ ماهگی تا ۳۱ ماهگی با افزایش سلول‌های گرانولر نسبت به سایر لایه‌های قشر مخچه گزارش شده بود. از آنجایی که تعداد سلول‌های گرانولر در بالغین افزایش نمی‌یابد، افزایش نسبت این سلول‌ها نسبت به پورکنزها را به علت از دست سلول‌های پورکنز با افزایش سن و پیری مرتبط دانستند [21].

در مطالعه که woodruff و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام دادند، نشان دادند که طی پیری در خرگوش ۲۵-۲۰ درصد سلول‌های پورکنز از بین می‌روند [3,7,21].

از نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر به دنبال القا پیری توسط دی-گالاکتوز در موش‌های سوری افزایش معنی‌داری در تولید گونه فعال اکسیژن (ROS) بدست آمد که با مطالعات قبلی همخوانی دارد.

از نتایج هیستومورفومتری در مطالعه حاضر کاهش معنی‌داری در ضخامت قشر مخچه بدست آمد. به طوری که ضخامت طبقات مولکولر، سلول‌های پورکنز و گرانولر در گروه القا پیری

منابع و مآخذ

1. Shin, KR., Kim, MY., Kim, YH., 2003. Study on the lived experience of aging. Nurs Health Sci. 5:245-252.
2. Forster, M., Dubey, A., Dawson, KM., Stutts, WA., Lal, H., Sohal, RS., 1996. Age-related losses of cognitive function and motor skills in mice are associated with oxidative protein damage in the brain. Proc Natl Acad Sci U S A. 93:4765-4769.
3. Pak, JW., Herbst, A., Bua, E., Gokey, N., McKenzie, D., Aiken, JM., 2003. Mitochondrial DNA mutations as a fundamental mechanism in physiological declines associated with aging. Aging Cell. 2:1-7.
4. Kennedy, BK., Pennypacker, JK., 2014. Drugs that modulate aging: the promising yet difficult path ahead. Transl Res. 163:456-465.
5. Velzen, LS., Wijdeveld, M., Black, CN., Tol, MJ., Wee, NJ., Veltman, DJ., Penninx, BW., Schmaal, L., 2017. Oxidative stress and brain morphology in individuals with depression, anxiety and healthy controls. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 76:140-144.
6. Joseph, J., Cole, G., Head, E., Ingram, D., 2009. Nutrition, brain aging, and neurodegeneration. J Neurosci. 29:12795-12801.
7. Woodruff-Pak, DS., Foy, MR., Akopian, GG., Lee, KH., Zach, J., Nguyen, KP., Comalli, DM., Kennard, JA., Agelan, A., Thompson, RF., 2010. Differential effects and rates of normal aging in cerebellum and hippocampus. Proc Natl Acad Sci USA. 107:1624-1629.
8. Wei, H, Li, L, Song, Q, Ai, H, Chu, J., Li W., 2005. Behavioural study of the D-galactose induced aging model in C57BL/6J mice. Behav Brain Res. 157:245-251.
9. Ames, B., Shigenaga, MK., . 1992. Oxidants are a major contributor to aging. Ann New York Acad Sci. 663: 85-96.
10. Babaei Abraki, S., Chavoshi-Nejad, S., 2014. Mitochondrial Defects and Oxidative Stress in Alzheimer Disease .The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam. 2(1): 85-94.
11. Alaluf, S., Muir-Howi, H., Hu, HL., Evans, A., Green, MR., 2000. Atmospheric oxygen accelerates the induction of a post-mitotic phenotype in human dermal fibroblasts: the key protective role of glutathione. Differentiation. 66: 147-55.
12. Parameshwaran, K., Irwin, MH., Steliou, K., Pinkert, CA., (2010). D-Galactose Effectiveness in Modeling Aging and Therapeutic Antioxidant Treatment in Mice REJUVENATION RESEARCH. 13: 729-735.

13. Xu, S., Mingmin, B., Diandong, Lia., Yong, M., 1999. Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model. *Mechanisms of Ageing and Development*. 108: 239–251.
14. CHEN, B., ZHONG, Y., PENG, W., SUN, Y. AND KONG, WJ., 2010. Age-related changes in the central auditory system: comparison of D-galactose-induced aging rats and naturally aging rats .*Brain Res*. 1344: 43-53.
15. CUI, X., ZUO, P., ZHANG, Q., LI, X., HU, Y., LONG, J., PACKER, L. AND LIU, J., 2006. Chronic systemic Dgalactose exposure induces memory lossneurodegeneration and oxidative damage in mice: protective effects of R-alpha-lipoic acid . *J. Neurosci. Res*. 83: 1584-1590.
16. GU, X., ZHOU, Y., HU, X., GU, Q., WU, X., CAO, M., KE, K. AND LIU, C., 2013. Reduced numbers of cortical GABA-immunoreactive neurons in the chronic dgalactose treatment model of brain aging .*Neurosci. Lett*. 82-86: 549.
17. PARK, JH., CHOI, TS., (2012). Polycystic ovary syndrome (PCOS)-like phenotypes in the d-galactoseinduced aging mouse model . *Biochem. biophys. Res. Commun*. 427: 701-704.
18. MAROSI, K., BORI, Z., HART, N., SARGA, L., KOLTAI, E., RADA, Z. AND NYAKAS, C., 2012. Long-term exercise treatment reduces oxidative stress in the hippocampus of aging rats. *Neuroscience*, 226: 21-28.
19. Lee, J., Cho, JY., Kim, WK., 2014. Anti-inflammation effect of Exercise and Korean red ginseng in aging model rats with diet-induced atherosclerosis. *Nutr Res Pract*. 8(3):284-91.
20. Ogata, R., Ikari, K., Hayashi, M., Tamai, K., Tagawa, K., 1984. Age-related changes in the Purkinje's cells in the rat cerebellar cortex: a quantitative electron microscopic study. *Folia Psychiatr Neurol Jpn*. 38:159–167.
21. Sturrock, RR., 1989. Changes in neuron number in the cerebellar cortex of the ageing mouse. *J Hirnforsch*. 30(4):499-503.

THE EFFECT OF D-GALACTOSE INDUCED MICE AGING ON CEREBELLAR TISSUE

ELYAR AZIMI¹_ NIMA ABBASPOUR²

1- Division of Pharmacology and Toxicology, Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

2- Young Researchers and Elite Club, tabriz Branch, Islamic Azad University, tabriz, Iran.

Abstract

Cerebellum is an important area of hind brain that plays key role in balancing, controlling excitement & subtle acts. Studies have shown that prolonged use of de-galactose in mice leads to morphological & functional disorders of brain like normal aging symptoms. The study aimed to evaluate the possible changes of cerebellar cortex tissue, ROS test of active oxygen species of cerebellum tissue following aging induction by D-galactose in house mouse (*Mus musculus*). According to study aim, age-old modeling was performed on all house mouse. Accordingly, subjects were randomly assigned in two groups: control + saline (S + C) & aging group (de-galactose). De-galactose & saline solution were used in order to create an aging model (sodium chloride 0.9%). The cerebellum samples were out by sectional thickness of 5 microns after preparation & tissue passage stages & were stained by hematoxylin-eosin & finally were examined under optical Nikon microscope. Quantitative variables were analyzed using T-test & SPSS software. The most variations were observed in Purkinje cells in observations on cerebellum tissue samples of aged-induced group by D-galactose. The arrangement & placement of cells were destroyed. The position of nuclei in cell was not central. Purkinje cells had different morphological forms under aging induction. Necrosis, chromatolysis & picnosis were observed. According to results, di-galactose (aging induction) causes pathological changes in cerebellar cortex, especially in porkinje.

Keywords: Aging, D-galactose, Mouse, Oxidative stress, Cerebellum.