

Research Paper

The Effect of Swimming Training and Trans-cinnamic Acid on Anxiety, Working Memory and Dark Neuron Density of Rat's Offspring Hippocampus in Prenatal Seizure Model

Mohammad Ali Zarei, Seyed Ebrahim Hosseini*, Mohammad Amin Edalatmanesh

Department of Biology, College of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Received: 4 April 2021

Revised: 27 April 2021

Accepted: 31 May 2021

Use your device to scan and
read the article online



Keywords:

Seizure, Swimming,
Trans-Cinnamic
Hippocampus, Pregnancy

Abstract

Introduction: Perinatal seizure cause hippocampal neuronal apoptosis by inducing oxidative stress in the fetal central nervous system. This study evaluates the effect of swimming training (ST) and trans-cinnamic acid (CIN) administration during pregnancy on anxiety, cell damage and density of apoptic neurons in the neonatal hippocampus following penthylenetetrazol (PTZ)-induced perinatal seizures.

Materials and methods: In this experimental study, neonates from 25 Wistar pregnant rats were randomly divided into 5 healthy control, PTZ+NS, PTZ+CIN, PTZ+ST and PTZ+CIN+ST groups. From embryonic day (ED) 14, the animals were treated with repeated PTZ administration (50 mg / kg, intra- peritoneally) for 5 consecutive days. During pregnancy, moderate intensity swimming (20 min, 3 sessions per week) and CIN gavage (100 mg/kg) were performed daily until term delivery. Anxiety-like behaviors and working memory were assessed with elevated plus maze and Y maze, respectively and dark neurons density was measured in the hippocampus of male neonate at postnatal day (PND) 30.

Findings: Significant decrease in alteration behavior and increase in anxiety with high density of dark neuron in different areas of hippocampus were observed in the PTZ+NS group compared to the control group ($p < 0.05$). On the other hand, in PTZ+CIN+ST group, in comparison with PTZ+NS group, a decrease in anxiety, amelioration of working memory deficit and a decrease in hippocampal dark neuron density were observed ($p < 0.05$).

Conclusion: Interaction of swimming training with trans-cinnamic acid administration ameliorates cognitive-behavioral deficits and cell damage in the hippocampus of rats exposed to maternal seizures.

Citation: Zarei MA, Hosseini SE, Edalatmanesh MA. The effect of swimming training and trans-cinnamic acid on anxiety, working memory and dark neuron density of rat's offspring hippocampus in prenatal seizure model. Res Sport Sci Med Plants. 2021; 1 (3): 34- 46.

*Corresponding author: Seyed Ebrahim Hosseini

Address: Department of Biology, College of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Tell: 00989171184495

Email: ebrahim.hossini@yahoo.com

Extended Abstract

Introduction

Repeated seizures have destructive effects on brain structure and induce selective cell death in the hippocampus. Although the exact cellular mechanism of this disorder is still under investigation, present physiological studies and genetic analysis indicate that epilepsy with various ion channels including voltage channels of sodium, calcium, potassium, chlorine and ligand channels of acetylcholine, GABA and their receptors is associated (1). Studies have shown that generalized tonic-clonic seizures in pregnant mother's lead to behavioral and cognitive problems in their children in later life (2). In fact, seizures cause irreversible damage to the central nervous system (CNS) and other fetal organs by increasing acidosis and hypoxia (3). Numerous evidences have confirmed the role of regular exercise in mental and physical health. Physical activity reduces the damage to the brain by strengthening the antioxidant defense system of the brain and by increasing the activity of antioxidant enzymes (7). Relatively short exercises prevent a decrease in brain volume and inflammation in aging and increase neuronal density in anterior-temporal portion of the frontal lobe (8). Also, exercise increases the long-term potentiation in the dentate gyrus of the hippocampus, neurogenesis, reduces apoptosis in brain neurons and improves cognitive and behavioral functions in laboratory animals (9). Today, due to the side effects of anticonvulsant toxicity and lack of the desired therapeutic effect, the use of herbal medicines has become widespread and addressing medicinal plants is part of the World Health Organization's drug policy program. Cinnamic acid is a phenolic compound found in cereals such as rice, wheat, barley, in vegetables such as tomatoes and carrots, and in fruits such as pineapples and oranges (11). Considering the anticonvulsant effects of flavonoids and the role of physical activity in preventing cognitive-behavioral disorders caused by oxidative stress in this study, the interactive effect of trans-cinnamic acid and swimming training in reducing the hippocampal dark neurons, anxiety and memory impairment are evaluated due to prenatal seizures.

Materials and Methods

In this experimental study, 50 infants (one-month-old) of the prenatal seizure model who were exposed to pentylentetrazole (PTZ)

during pregnancy were used. The neonates were the result of mating of 25 virgin female rats with an average weight of 180 ± 10 g with 25 adult male Wistar rats. Randomized pregnant rats in 5 groups of 5 including healthy control groups, PTZ + NS (group receiving pentylentetrazole and normal saline), PTZ + CIN (group receiving pentylentetrazole and trans-cinnamic acid at a dose of 100 mg), PTZ + ST (Pentylentetrazole receiving group and swimming training) and PTZ + CIN + ST (pentylentetrazole receiving group, 100 mg / kg trans-cinnamic acid and swimming training). Pentylentetrazole was administered intraperitoneally at a repeated dose of 50 mg / kg body weight from day 14 of gestation for 5 days. Rats were evaluated for seizure behavior 30 minutes after pentylentetrazole injection (14). The swimming training protocol included 3 weeks of swimming in a circular rodent pool with a diameter of 1 m, water height of 50 cm and water temperature of 25 ± 2 °C for 20 minutes per session (moderate intensity) and three sessions per week. The animals entered the pool one minute before training to get acquainted with the environment and warm up. Anxiety-like behaviors and working memory were measured using elevated plus-maze and Y-maze, respectively and then hippocampal dark neurons were measured. At the end of behavioral tests, following deep anesthesia with chloroform, isolation and stabilization of brain tissue were performed by transcordially perfusion method. To determine the density of neuronal dark in different regions of the hippocampus, first 4 regions of the hippocampus (CA1, CA2, CA3, DG) were identified by using the Paxinos and Watson atlas and then the artifactual cells in the different areas of hippocampus were counted by dissector method. In order to determine the existence of significant differences between the groups, two-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used. Statistically, the values of $P < 0.05$ were considered significant.

Findings

The results showed that the percentage of correct alteration behavior in the PTZ + NS group decreased significantly compared to the control group ($P < 0.001$). Comparison between PTZ + NS group and treatment groups showed a significant increase in the percentage of

alteration behavior in PTZ + CIN group ($P < 0.05$), PTZ + ST group ($P < 0.05$) and PTZ + CIN + ST group ($P < 0.001$) with PTZ + NS group. The results showed a significant difference in closed arm of elevated plus maze duration between the control group and the PTZ + NS ($p < 0.001$), PTZ + CIN ($P < 0.001$), PTZ + ST ($P < 0.05$) and PTZ + CIN + ST ($P < 0.05$) groups. These results indicate an increase in anxiety in animals exposed to PTZ during the prenatal period. Also, statistical studies showed a significant decrease in anxiety in PTZ + ST ($P < 0.05$) and PTZ + CIN + ST ($P < 0.05$) compared to PTZ + NS. In the study of the four areas of the hippocampus in the PTZ treated groups, an increase in cell damage and the density of hippocampal dark neurons was observed in the regions of CA1, CA2, CA3 and dentate gyrus (DG) (Figure 1). In the PTZ + CIN + ST group, which received trans- cinnamic acid during pregnancy and the mothers practiced swimming, compared to the PTZ + NS group, showed a decrease of cell damage and a decrease in dark neurons density.

Discussion

The results of the present study showed that injection of pentylenetetrazole during pregnancy causes myoclonic seizures in the mother causing cell damage and necrotic death of pyramidal neurons in different areas of the neonatal hippocampus. Infants exposed to PTZ during prenatal period suffer from severe cell damage in the hippocampus that is associated with increased density of apoptotic neurons in the hippocampus. On the other hand, this injury led to impaired working memory and increased anxiety in pups. Studies have shown that exposure of mouse embryos to maternal seizures induced by PTZ kindling significantly reduces learning and memory (20). Also, day 14 of pregnancy is better for injecting PTZ and starting kindling. At this stage of pregnancy, the structure of the brain is developing and maternal seizures have a negative effect on the process of neurogenesis, the development of the CNS, neuronal migration to the fetal hippocampus and ultimately on the memory of the pups (21). Maternal epilepsy causes structural and functional deformation of the hippocampus in the fetus and this causes cognitive impairment in them (24). In fact, in the present study, the increase in the density of dark neurons stained with toluidine blue in different areas of the hippocampus was due to pathological changes caused by epileptic seizures that led to neuronal damage and death. In the present study, it was found that swimming training in mothers during pregnancy (three weeks of training) by reducing working

memory and reducing anxiety in the resulting neonates, reduces cell damage to the neonatal hippocampus so that the dark neurons density in different areas of the hippocampus. The PTZ + ST group had a significant decrease compared to the PTZ + NS group in CA2, CA3 and DG regions. Prenatal seizures have been shown to induce oxidative stress in the fetal nervous system by producing free radicals (6). On the other hand, in the swimming and trans- cinnamic acid exercise group (PTZ + CIN + ST), which evaluates the interaction between swimming activity and cinnamic acid activity, a significant reduction in hippocampal neuronal dark density (in all 4 areas) and anxiety along with improved working memory was seen. Because oxidative stress is a major cause of degeneration and induces oxidative damage in the hippocampus and damage to pyramidal cells, antioxidants will be able to prevent hippocampal cell damage. Trans- cinnamic acid has antioxidant properties and is known as a strong inhibitor of free radicals (30). Chronic use of cinnamic acid in animal models prevents or improves the complications of neurological diseases such as Alzheimer's disease and Parkinson's disease (31).

Conclusion

Interaction of swimming training with trans-cinnamic acid administration ameliorates cognitive-behavioral deficits and cell damage in the hippocampus of rats exposed to maternal seizures.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

The present study has been approved by the Research Council of Islamic Azad University, Shiraz Branch.

Funding

Islamic Azad University, Shiraz Branch.

Authors' contributions

Design and ideation: Mohammad Amin Edalatmanesh; Methodology and data analysis: Mohammad Ali Zarei; Final supervision and writing: Mohammad Amin Edalatmanesh and Seyed Ebrahim Hosseini.

Conflicts of interest

According to the authors of the present article, there was no conflict of interest.

مقاله پژوهشی

اثر تمرین شنا و ترانس سینامیک اسید بر میزان اضطراب، حافظه کاری و دانسیته دارک نورونی هیپوکامپ نوزادان موش صحرایی در مدل تشنج پری‌ناتال

محمد علی زارعی، سید ابراهیم حسینی*، محمد امین عدالت منش
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

چکیده

مقدمه و هدف: تشنج مادری با القاء استرس اکسیداتیو در سیستم عصبی جنین، سبب آپوپتوز نورون‌های هیپوکامپ می‌گردد. این مطالعه به ارزیابی اثر تمرین شنا (ST) و تجویز ترانس سینامیک اسید (CIN) در دوران بارداری بر میزان اضطراب، آسیب سلولی و دانسیته نورون‌های آپوپتیک در هیپوکامپ نوزادان موش‌های صحرایی متعاقب تشنج پری‌ناتال ناشی از پنتیلن‌تترازول (PTZ) می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی نوزادان حاصل از ۲۵ سر موش صحرایی باردار نژاد ویستار که به صورت تصادفی در ۵ گروه کنترل سالم، نرمال سالین (NS)، PTZ + (NS)، PTZ+CIN، PTZ+ST، PTZ+CIN+ST و PTZ قرار گرفتند، استفاده شد. از روز ۱۴ بارداری، حیوانات به مدت ۵ روز متوالی در معرض تجویز مکرر (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، درون صفاقی) قرار گرفتند. در طول بارداری، تمرین شنا با شدت متوسط (۲۰ دقیقه، ۳ جلسه در هفته) و گاواژ سینامیک اسید (۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) روزانه و تا قبل از زایمان انجام شد. رفتارهای شبه اضطرابی و حافظه کاری به ترتیب با ماز صلیبی مرتفع و ماز Y و دانسیته دارک نورونی هیپوکامپ نوزادان در ۳۰ روزگی سنجیده شد.

یافته‌ها: کاهش معنی‌دار رفتارهای تناوبی، افزایش میزان اضطراب با تراکم بالای دارک نورونی در نواحی مختلف هیپوکامپ در گروه PTZ+NS نسبت به گروه کنترل دیده شد ($P \leq 0.05$) از طرفی، در گروه PTZ+CIN+ST در مقایسه با گروه PTZ+NS کاهش میزان اضطراب، بهبود اختلال حافظه کاری و کاهش دانسیته دارک نورونی هیپوکامپ مشاهده شد ($P \leq 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تعامل تمرین شنا و تجویز ترانس سینامیک اسید سبب کاهش اختلالات شناختی-رفتاری و آسیب سلولی در هیپوکامپ نوزادان موش‌های صحرایی در معرض تشنجات مادری می‌گردد.

تاریخ دریافت: ۱۵ فروردین ۱۴۰۰

تاریخ داوری: ۷ اردیبهشت ۱۴۰۰

تاریخ پذیرش: ۱۰ خرداد ۱۴۰۰

از دستگاه خود برای اسکن و خواندن مقاله به صورت آنلاین استفاده کنید



واژه‌های کلیدی:

تشنج، شنا، ترانس سینامیک اسید، هیپوکامپ، بارداری

مقدمه

که صرع با کانال‌های مختلف یونی از جمله دریچه‌های ولتاژ کانال سدیم، کلسیم، پتاسیم، کلر و کانال‌های لیگاندی استیل کولین، نیکوتین و گیرنده‌های GABA در ارتباط است (۱).

تشنج مکرر دارای اثرات مخربی بر ساختار مغز است و سبب القاء مرگ سلولی انتخابی در هیپوکامپ می‌گردد. اگرچه مکانیسم دقیق سلولی این اختلال هنوز در دست بررسی است، ولی مطالعات فیزیولوژیک حاضر و تحلیل‌های ژنتیکی نشان می‌دهد

* نویسنده مسئول: سید ابراهیم حسینی

نشانی: گروه زیست‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

تلفن: ۰۹۱۷۱۱۸۴۴۹۵

پست الکترونیکی: ebrahim.hossini@yahoo.com

در این پژوهش اثر تعاملی ترانس سینامیک اسید و تمرین شنا در کاهش تولید دارک نورون‌های هیپوکامپ، میزان اضطراب و اختلال حافظه ناشی حملات تشنجی در دوران پیش از تولد ارزیابی شده است.

مواد و روش‌ها

حیوانات و القاء مدل: در این تحقیق تجربی از تعداد ۵۰ سر نوزاد

یک ماهه مدل تشنج پرتنازل که در دوران جنینی در معرض پنتیلنترازول (PTZ) قرار داشتند، استفاده شد. نوزادان نتیجه جفت‌گیری ۲۵ سر موش صحرایی ماده باکره با میانگین وزنی 10 ± 180 گرم با ۲۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار بودند. حیوانات از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه و به آزمایشگاه تخصصی علوم جانوری در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز منتقل شدند. به منظور سازگاری با شرایط جدید، حیوانات به مدت یک هفته در محیط نگهداری شدند و سپس جهت مطالعه گروه‌بندی شدند. در محل نگهداری حیوانات، شرایط استاندارد دما (25 ± 2 درجه سانتی‌گراد)، رطوبت نسبی (50 ± 10 درصد) و چرخه روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعته (۶ صبح تا ۶ عصر رعایت شد. اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی منطبق با قوانین بین المللی و طبق ضوابط کمیته اخلاقی حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز صورت گرفت. قبل از اقدام برای جفت‌گیری، فاز استروس سیکل جنسی در موش‌های صحرایی ماده با اسمیر واژنی تعیین شد. با تشخیص سلول‌های شاخی شده و بدون هسته در اسمیر واژینال که نشان‌دهنده سیکل استروس است، در ساعات اولیه غروب آفتاب موش‌های صحرایی ماده با نر جفت داده شدند. روز صفر بارداری با مشاهده پلاک واژینال یا حضور اسپرماتوزوآ در اسمیر واژنی روز مشخص شد (۱۳). موش‌های صحرایی باردار به صورت تصادفی در ۵ گروه ۵تایی شامل گروه‌های کنترل سالم، PTZ+NS (گروه دریافت کننده پنتیلنترازول و نرمال سالیین)، PTZ+CIN (گروه دریافت کننده پنتیلنترازول و ترانس سینامیک اسید با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، PTZ+ST (گروه دریافت کننده پنتیلنترازول و تمرین شنا) و PTZ+CIN+ST (گروه دریافت کننده پنتیلنترازول، ترانس سینامیک اسید با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و تمرین شنا) تقسیم شدند. تجویز پنتیلنترازول با دوز تکرار شونده ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان از روز ۱۴ بارداری به مدت ۵ روز به صورت درون صفاقی انجام شد. موشها ۳۰ دقیقه بعد از تزریق پنتیلنترازول جهت رفتار تشنج بررسی شدند (۱۴). نمره ۰: عدم پاسخ، نمره ۱: بیش‌فعالی، لرزش، کشش، نمره ۲: تکان سر، تشنج عضلانی سر و پرش میوکلونیک، نمره ۳: تشنج عضلانی یک طرفه عضو جلو، نمره ۴: گسترش تشنجات با تشنج عضلانی دوطرفه عضو جلو، نمره ۵: تشنج کلونیک تونیک عمومی (Generalized tonic-clonic seizure) همراه با رفلکس کشیدگی بدن (۱۵). تمرین شنا و گاواژ ترانس سینامیک اسید (Sigma, USA) با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۱ روز و از دو روز قبل از بارداری تا یک روز قبل از زایمان طبیعی در مادران

مطالعات نشان داده است که تشنج تونیک-کلونیک ژنرالیزه در مادران باردار منجر به بروز مشکلات رفتاری و شناختی در فرزندان آنها در مراحل بعدی زندگی می‌شود (۲). در واقع، تشنج با افزایش اسیدوز و هیپوکسی آسیب‌های جبران ناپذیری در سیستم عصبی مرکزی و سایر ارگان‌های جنین ایجاد می‌کند (۳). مصرف داروهای ضد تشنج در دوران بارداری تاثیر مخربی بر جنین در حال تکوین دارد. تجویز این داروها میزان ناهنجاری‌های جنینی، نقص در بسته شدن لوله عصبی، نواقص مادرزادی قلب، شکاف دهان و صورت، تاخیر در رشد، عقب افتادگی ذهنی، میکروسفالی و اختلالات شناختی را به دنبال داشته باشد (۴). کاهش هوش کلامی و افزایش میزان اضطراب و افسردگی در کودکان متولد شده از مادرانی که در دوران بارداری خود دچار تشنج شده و یا داروهای ضد تشنج مصرف کرده‌اند، دیده شده است. همچنین، تشنجات ناشی از صرع مادری با تغییر شکل و آسیب پاتولوژیک هیپوکامپ در نوزادان شده و مرگ نوروینی را به دنبال خواهد داشت (۵). استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد نقش مهمی در آسیب ساختار سلولی و پاتوژنز بیماری‌های نورودژنراتیو دارد. استرس اکسیداتیو و نیتروساتیو ناشی از تشنجات صرعی در دوران بارداری از دلایل عمده دژنراسیون نوروینی هیپوکامپ جنین، نقص در یادگیری و ایجاد اضطراب در نوزادان مدل‌های آزمایشگاهی به شمار می‌آید (۶). شواهد متعددی نقش فعالیت ورزشی منظم در سلامت روانی و جسمی تایید کرده‌اند. فعالیت بدنی با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مغز و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سبب کاهش آسیب‌های وارده به مغز می‌شود (۷). تمرینات نسبتاً کوتاه از کاهش حجم مغز و التهاب در پیری جلوگیری می‌نماید و تراکم نوروینی را در بخش فوقانی گیجگاهی لوب فرونتال افزایش می‌دهد (۸). همچنین، فعالیت ورزشی سبب افزایش پدیده تقویت طولانی مدت در شکنج دندان دار هیپوکامپ، نورونز، کاهش آپوپتوز در نورون‌های مغزی و بهبود عملکردهای شناختی و رفتاری در حیوانات آزمایشگاهی می‌گردد (۹). امروزه به دلیل عوارض ناشی از سمیت داروهای ضد تشنج و عدم دستیابی به اثر درمانی مطلوب استفاده از داروهای گیاهی گسترش زیادی یافته است و پرداختن به گیاهان دارویی بخشی از برنامه سیاست دارویی سازمان بهداشت جهانی است. فلاونوئیدها گروه بزرگی از ترکیبات پلی‌فنولی با وزن مولکولی پایین هستند که با فرم آزاد و گلیکوزیدی در طبیعت وجود دارند. اثر محافظتی فلاونوئیدها به علت فعالیت آنتی‌اکسیدانی، خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و تأثیر درمانی و پیشگیرانه در اختلالات سیستم عصبی، قلبی-عروقی و سرطان حائز اهمیت است (۱۰). سینامیک اسید ترکیبی فنولی است که در دانه‌های غلاتی مانند برنج، گندم، جو و در سبزی‌هایی از قبیل گوجه فرنگی و هویج و در میوه‌هایی مانند آناناس و پرتقال دیده می‌شود و در داروهای مورد استفاده در طب سنتی چین به وفور یافت می‌شود (۱۱). علاوه بر این، سینامیک اسید به عنوان ماده‌ای افزودنی به مواد غذایی که از اکسیداسیون جلوگیری می‌کند، مورد تایید قرار گرفته است (۱۲). با توجه به اثرات ضد تشنجی فلاونوئیدها و نقش فعالیت بدنی در پیشگیری از اختلالات شناختی- رفتاری ناشی از استرس اکسیداتیو

پاهای عقبی حیوان به طور کامل در داخل بازو قرار می‌گرفت، رفتارهای تناوبی به عنوان ورودهای موفق و پشت سر هم و سریالی به داخل همهی بازوها در مجموعه‌های ۳ تایی هم‌پوشانی کننده در نظر گرفته شد. به این ترتیب درصد تناوب مشاهده شده به حداکثر تناوب (تعداد کل بازوهای وارد شده) ضربدر ۱۰۰ محاسبه شد (۱۸).

هیستوپاتولوژی: در پایان آزمون‌های رفتاری و به دنبال بیهوشی عمیق با کلروفورم، جداسازی و تثبیت بافت مغز به روش پرفیوژن ترانس کاردیالی انجام شد. متعاقب شستن کامل خون از بدن حیوان با تزریق نرمال سالین به بطن چپ و خروج از دهلیز راست برش خورده، ۲۰۰ میلی‌لیتر فرمالین ۱۰ درصد حجمی جایگزین شد. پس از پایان پرفیوژن، کل مغز از جمجمه جدا و با ترازوی دیجیتالی حساس وزن شد. نمونه مغز به مدت ۷۲ ساعت در پارافرمالدهید ۴ درصد نگهداری شد. به منظور بررسی میکروسکوپی بافت مورد نظر، پس از تثبیت بافت توسط فیکساتور، فرایند آبیگری بافت با درجات صعودی اتانول انجام شد. پس از ۶ ساعت نگهداری بافت در اتانول، اثر اتانول توسط زایلن در سه نوبت ۳۰-۲۵ دقیقه‌ای از بافت حذف شد و فرایند شفاف‌سازی بافت صورت گرفت. سپس، عمل آغشتگی با پارافین و قالب‌گیری نمونه‌ها انجام گرفت. در نهایت قالب‌های پارافینی بر روی دستگاه میکروتوم ثابت و برش‌های نازک به ضخامت ۱۰ میکرون ایجاد شد. جهت سنجش تراکم دارک نورونی از رنگامیزی آبی تولوئیدین استفاده شد. به طور خلاصه، اسلایدهای تهیه شده پارافین زدایی شدند. سپس، با درجات نزولی الکی آبدهی شده و پس از شستشو به مدت یک دقیقه با رنگ آبی تولوئیدین رنگامیزی شدند (۱۹). اسلایدها به وسیله میکروسکوپ نوری (Olympus BH2 Japan) مورد مطالعه و مقایسه قرار گرفتند. جهت تعیین دانسیته دارک نورونی در نواحی مختلف هیپوکامپ، ابتدا ۴ ناحیه هیپوکامپ (CA1, CA2, CA3, DG) با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون تشخیص داده شد و سپس سلولهای آرتیفکت شده در محل‌های مورد نظر با روش دایکستور شمارش شد. پس از شمارش سلول‌ها، دانسیته با فرمول $N_A = \sum Q / \sum P \times AH$ محاسبه گردید که در آن N_A = دانسیته نورونی، $\sum Q$ = مجموع سلول‌های شمارش شده در یک نمونه، $\sum P$ = تعداد دفعات نمونه برداری شده در یک نمونه، A = مساحت چهارچوب نمونه برداری و H = فاصله بین دو برش متوالی، یا ضخامت هر برش می‌باشد (۱۹).

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری بین گروه‌های مختلف با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۲۰ انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش داده شد. جهت بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده گردید. همچنین، به منظور تعیین وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های مورد نظر از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. از نظر آماری مقادیر $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

باردار انجام شد. بعد از تولد نوزادان از بین تمامی زاده‌های حاصل از ۵ موش صحرایی باردار در هر گروه، تعداد ۱۰ سر نوزاد نر (دو نوزاد نر از هر مادر) به طور تصادفی انتخاب و جهت مطالعات مورد استفاده قرار گرفتند. مرگ و میر حین تشنج یا پس از آن، سقط جنین و مرده‌زایی در مادران، کاهش شدید وزن و اختلالات فیزیکی نوزادان معیار خروج حیوانات از مطالعه حاضر می‌باشد. نوزادان تا ۳۰ روزگی همراه با مادر نگهداری شدند.

پروتکل تمرین شنا: این پروتکل شامل ۳ هفته شنا کردن در استخر مدور مخصوص جوندگان با قطر ۱ متر، ارتفاع آب ۵۰ سانتی متر و دمای آب 25 ± 2 درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه در هر جلسه (با شدت متوسط) و سه جلسه در هفته بود. حیوانات یک دقیقه قبل از تمرین برای آشنایی با محیط و گرم کردن وارد استخر شدند. در مرحله اصلی تمرین از یک بخش ثابت از استخر رها شده و ضمن شنا خود را به سکوی مخفی نجات (hidden platform) می‌رساندند. سکوی نجات به قطر ۱۰ سانتی متر و از جنس پلکسی گلاس شفاف، یک سانتی متر زیر آب قرار دارد. به محض قرار گرفتن روی سکوی، موقعیت سکوی تغییر داده شد تا حیوان به شنای خود ادامه دهد (۱۶). یک هفته قبل از اجرای پروتکل اصلی شنا و قبل از اقدام برای جفت‌گیری، کلیه موش‌های صحرایی ماده به مدت ۸ دقیقه تمرین شنا انجام دادند و روزانه ۲ دقیقه به زمان شنا اضافه شد تا در پایان به ۲۰ دقیقه رسید.

آزمون ماز صلیبی مرتفع: این آزمون در یک ماهگی و بر روی نوزادان نر که در دوران جنینی در معرض PTZ بودند، صورت گرفت. ماز صلیبی مرتفع برای سنجش رفتار شبه اضطرابی در جوندگان مورد استفاده قرار گرفت. ماز شامل چهار بازو شامل دو بازوی باز و بدون دیواره و دو بازوی بسته که توسط دیوار احاطه شده است، تشکیل شده است. طول هر بازو ۳۵ سانتی متر و عرض آن ۱۵ سانتی متر می‌باشد که ۴۵ سانتی متر بالاتر از سطح زمین قرار می‌گیرد. حیوان با رعایت کامل هندلینگ در مرکز ماز قرار گرفت و رفتار آن به کمک دوربین و سیستم ردیاب به مدت ۳۰۰ ثانیه بررسی شد. در این آزمون، میانگین مدت زمان قرارگرفتن بازوی بسته در گروه‌های مختلف ثبت شد. علاوه بر این، میانگین مدت زمان باقی ماندن در بازوی باز و تعداد سرک کشیدن به بازوی باز به عنوان یک رفتار ریسک‌پذیر مورد بررسی قرار گرفت (۱۷). جوندگان به طور معمول تمایل به قرار گرفتن در بازوی بسته را دارند و حیوانات دارای اضطراب مدت زمان بیشتری را در بازوی بسته می‌مانند.

آزمون حافظه کاری: در این آزمون میزان رفتارهای تناوبی در ماز Y به عنوان یک شاخص برای سنجش حافظه کاری استفاده شد. ماز Y از سه بازو با ابعاد هر بازو $15 \times 15 \times 60$ سانتی متر تشکیل شده است که به شکل حرف Y به هم متصلند. ابتدا هر حیوان در قسمت انتهایی یک بازو قرار داده شد، به طوری که امکان دسترسی آزاد حیوان به سایر بازوهای ماز در دوره زمانی ۵ دقیقه‌ای امکان‌پذیر شد. جوندگان در ماز Y ترجیح می‌دهند به بررسی بازوی جدید بپردازند و تمایلی برای بازگشت به بازویی که آن را قبلاً دیده بودند، ندارند مگر فراموش کرده باشند. ورود حیوان به بازو زمانی در نظر گرفته شد که

یافته ها

آزمون ماز Y: ارزیابی حافظه کاری: نتایج ANOVA و آزمون تعقیبی توکی نشان داد که درصد تناوب صحیح حرکتی در گروه PTZ+NS نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری دارد ($P < 0.001$). همچنین، بین گروه کنترل و گروه‌های PTZ+CIN، PTZ+NS و PTZ+ST نیز اختلاف معنی‌داری (به ترتیب: $P < 0.01$ ، $P < 0.05$ و $P < 0.01$) دیده شد. مقایسه بین گروه PTZ+NS با گروه‌های تیمار نشان از افزایش معنی‌دار درصد تناوب حرکتی در گروه PTZ+CIN ($P < 0.05$)، گروه PTZ+ST ($P < 0.05$) و گروه PTZ+CIN+ST ($P < 0.001$) با گروه PTZ+NS می‌باشد. همچنین، افزایش درصد تناوب حرکتی در گروه PTZ+CIN+ST نسبت به دو گروه PTZ+CIN و PTZ+ST معنی‌دار بود (شکل ۱، $P < 0.05$).

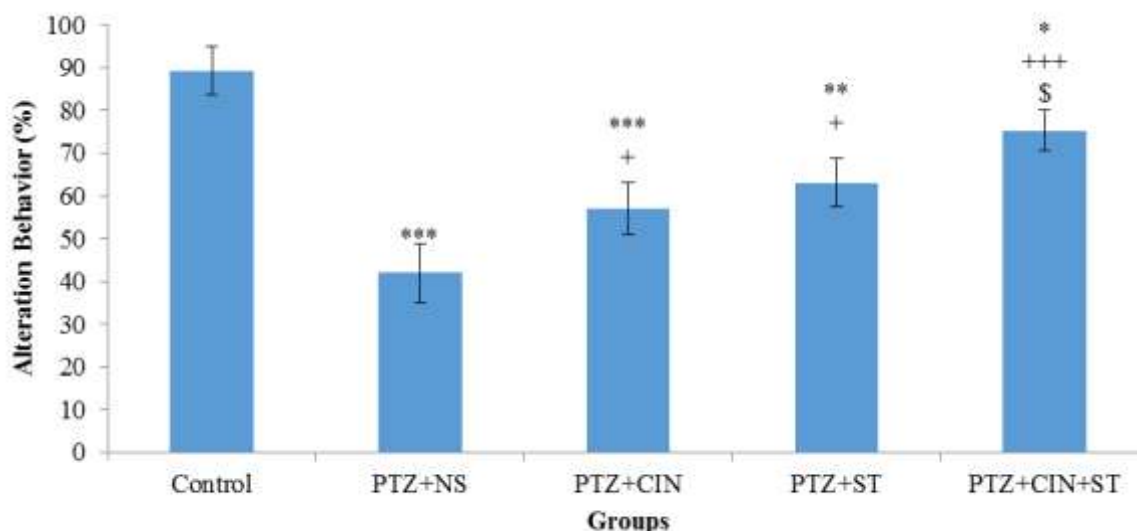
ارزیابی رفتارهای شبه اضطرابی در آزمون ماز صلیبی مرتفع: نتایج، اختلاف معنی‌داری را در مدت زمان بازوی بسته بین گروه کنترل با گروه‌های PTZ+NS ($P < 0.001$)، PTZ+CIN ($P < 0.001$)، PTZ+ST ($P < 0.05$) و PTZ+CIN+ST ($P < 0.05$) نشان داد. این نتایج نشان دهنده افزایش میزان اضطراب در حیواناتی است که در دوران جنینی در معرض PTZ قرار داشتند. همچنین، بررسی‌های آماری کاهش قابل توجهی در میزان اضطراب در گروه PTZ+ST ($P < 0.05$) و PTZ+CIN+ST ($P < 0.05$) نسبت به گروه PTZ+NS را نشان داد. همچنین، کاهش معنی‌داری در سطح اضطراب بین گروه PTZ+CIN+ST با گروه‌های PTZ+CIN و PTZ+ST اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P < 0.05$ ، شکل ۲).

ارزیابی اثرات هیستوپاتولوژیک و دانسیته دارک نورونی هیپوکامپ: نتایج حاصل از دانسیته دارک نورون‌ها در ۴ ناحیه مختلف هیپوکامپ در گروه کنترل و گروه‌های تیمار با یکدیگر مقایسه شد (جدول ۱). همانگونه که در شکل ۳ دیده می‌شود، در بررسی نواحی چهارگانه هیپوکامپ در گروه‌های دریافت‌کننده پنتیلین تترازول در دوران جنینی، افزایش آسیب سلولی و دانسیته دارک نورونی هیپوکامپ در نواحی CA1، CA2، CA3 و ژيروس دندانهای (DG) مشاهده شد. در گروه PTZ+CIN+ST که در دوران جنینی تران سینامیک اسید دریافت نموده و مادران تمرین شنا داشتند، در مقایسه با گروه PTZ+NS کاهش میزان آسیب سلولی و کاهش دانسیته دارک نورونی را نشان داد. دانسیته دارک نورونی که نشان‌دهنده اثرات دژنراتیو پنتیلین تترازول است در گروه‌های دریافت‌کننده PTZ نسبت به گروه کنترل و گروه‌های تیمار ارزیابی شد. اختلاف معنی‌داری بین گروه PTZ+NS و گروه کنترل در نواحی CA1، CA2، CA3 و DG دیده شد ($P < 0.001$). در ناحیه CA1، اختلاف معنی‌داری بین گروه PTZ+NS و تمامی گروه‌های تیمار دیده شد ($P < 0.001$). در واقع کاهش معنی‌داری در گروه‌های PTZ+CIN، PTZ+ST و PTZ+CIN+ST نسبت به گروه

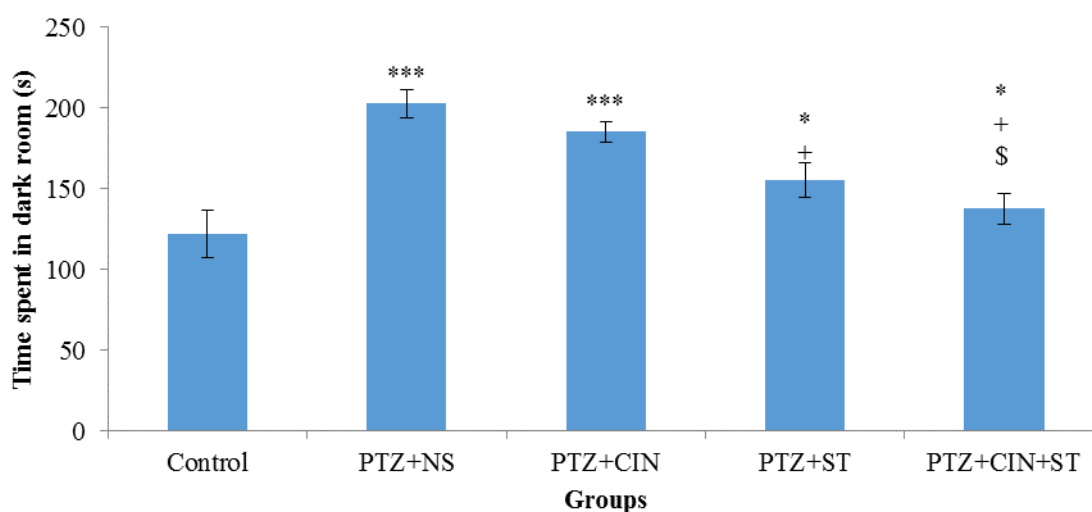
PTZ+NS دیده شد ($P < 0.001$). در این ناحیه، گروه PTZ+CIN+ST در مقایسه با گروه‌های PTZ+CIN و PTZ+ST کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). دانسیته دارک نورونی در ناحیه CA2 در گروه PTZ+CIN+ST نسبت به گروه PTZ+NS کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.01$). بین گروه PTZ+CIN+ST با گروه‌های PTZ+CIN و PTZ+ST نیز اختلاف معنی‌داری در این ناحیه دیده شد ($P < 0.01$). در ناحیه CA3، در گروه‌های PTZ+CIN، PTZ+ST و PTZ+CIN+ST در مقایسه با گروه PTZ+NS کاهش معنی‌داری در دانسیته دارک نورون‌ها مشاهده شد ($P < 0.001$). در این ناحیه، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تیمار دیده نشد ($P > 0.05$). دانسیته دارک نورونی در ناحیه DG، در گروه‌های دریافت‌کننده ترانس سینامیک اسید و تمرین شنا نسبت به گروه PTZ+NS کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0.001$) که این تفاوت بیانگر اثر حفاظت عصبی تجویز ترانس سینامیک اسید و تمرین شنا به همراه کاهش آسیب سلولی در هیپوکامپ نوزادان توسط ماده تشنج‌زای پنتیلین تترازول می‌باشد (شکل ۱). مقایسه بین گروه‌های تیمار نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در تراکم نورونی گروه‌های PTZ+CIN، PTZ+ST و PTZ+CIN+ST با یکدیگر نیست ($P > 0.05$).

بحث و بررسی

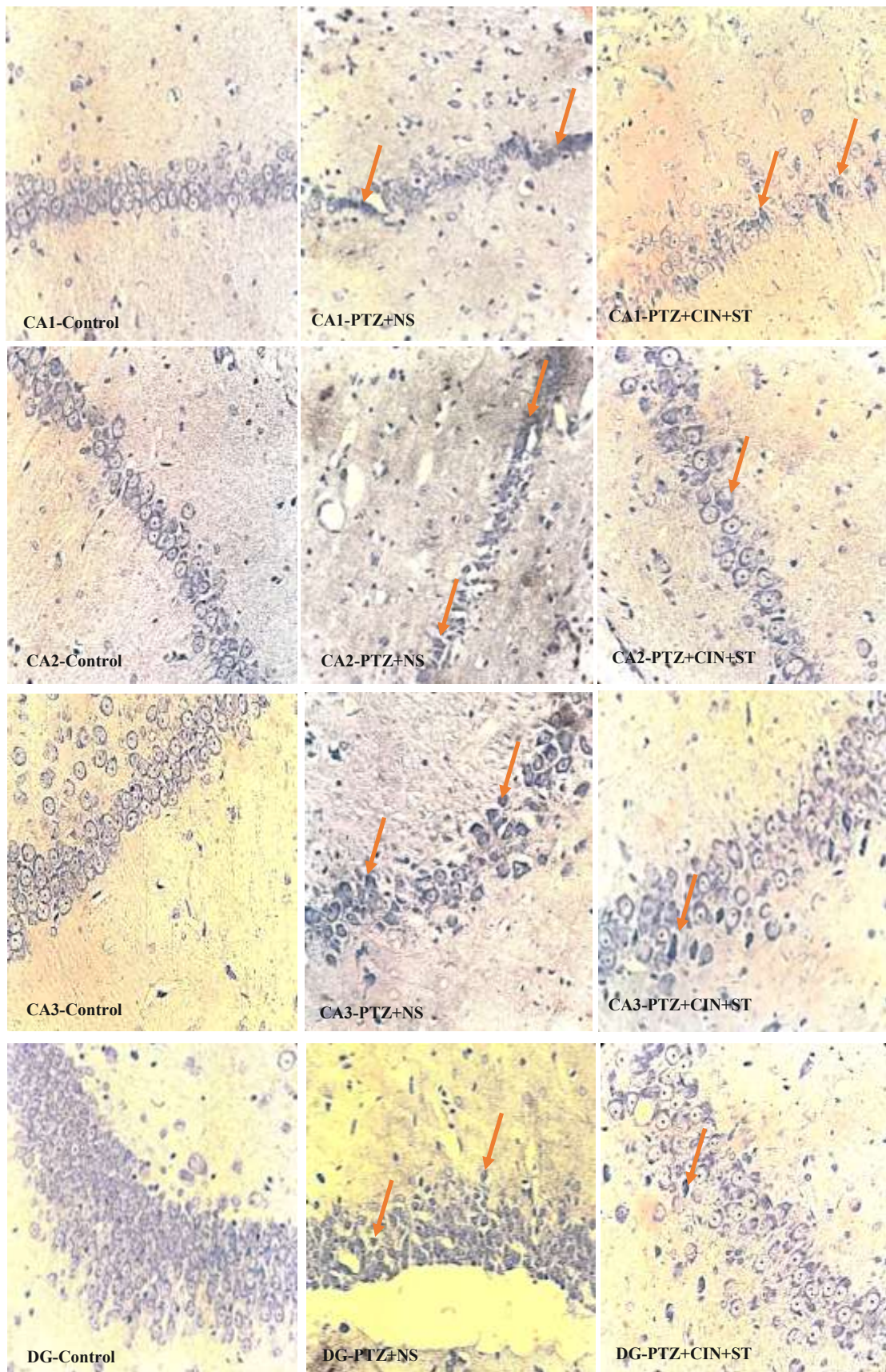
نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق پنتیلین تترازول در دوران بارداری با ایجاد تشنجات میوکلوئیک در مادر سبب آسیب سلولی و مرگ نکروتیک نورون‌های پیرامیدال در نواحی مختلف هیپوکامپ نوزادان می‌گردد. نوزادانی که در دوران جنینی در معرض PTZ قرار داشتند، از آسیب شدید سلولی در هیپوکامپ که با افزایش تراکم نورون‌های آپوپتیک و آرتیفکت‌های نورونی در هیپوکامپ همراه است، رنج می‌برند که این آسیب دیگی به صورت پایدار و تا یک ماهگی دیده شد. از طرف دیگر، این آسیب منجر به بروز اختلال در حافظه کاری و افزایش میزان اضطراب در نوزادان شد. مطالعات نشان داده‌اند که قرار گرفتن جنین موش در معرض تشنج مادری که با کیندیلینگ PTZ القاء شده است، سبب کاهش قابل توجه یادگیری و حافظه می‌گردد (۲۰). همچنین، روز ۱۴ بارداری برای تزریق PTZ و شروع کیندیلینگ، مناسب‌تر است. در این مرحله از بارداری، ساختار مغز در حال تکوین است و تشنج مادری اثر منفی بر فرایند نوروژنز، تکوین سیستم عصبی مرکزی، مهاجرت نورونی به هیپوکامپ جنین و در نهایت بر حافظه نوزاد دارد (۲۱). از طرف دیگر، در صرع مادری کاهش بیان گیرنده گابا در جنین منجر به تغییرات درون سلولی در سطح بیان PKA می‌شود. PKA یک مولکول اصلی در انتقالات سیناپسی است که در رویدادهای مولکولی و سیناپسی صرع نیز دخالت دارد (۲۲). همچنین، کاهش بیان mRNA گیرنده های گابا در منطقه CA1 و CA3 سلول‌های پیرامیدال هیپوکامپ متعاقب تشنج در موش‌های صحرایی دیده شده است (۲۳).



شکل ۱. مقایسه میانگین \pm انحراف استاندارد درصد تناوب صحیح حرکتی در گروه‌های مختلف: نتایج نشان داد بین گروه کنترل با گروه PTZ+NS، PTZ+CIN، PTZ+ST، PTZ+CIN+ST و PTZ+CIN+ST اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($***P < 0.001$ و $**P < 0.01$ و $*P < 0.05$). بین گروه‌های PTZ+CIN، PTZ+ST، PTZ+CIN+ST و PTZ+CIN+ST با گروه PTZ+CIN+ST نیز اختلاف معنی‌دار دیده شد ($+++P < 0.001$ و $++P < 0.01$ و $+P < 0.05$). همچنین، بین گروه PTZ+CIN+ST با گروه‌های PTZ+CIN و PTZ+ST اختلاف معنی‌داری قابل مشاهده است ($*P < 0.05$).



شکل ۲. مقایسه میانگین \pm انحراف استاندارد مدت زمان حضور در بازوی بسته ماز صلیبی مرتفع در گروه‌های مختلف. نتایج اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل با سایر گروه‌های مطالعه را نشان داد ($***P < 0.001$ و $*P < 0.05$). بین گروه PTZ+NS و گروه‌های PTZ+CIN و PTZ+ST نیز اختلاف معنی‌دار دیده شد ($+P < 0.05$). همچنین، گروه PTZ+CIN+ST با گروه‌های PTZ+CIN و PTZ+ST دارای اختلافی معنی‌داری است ($*P < 0.05$).



شکل ۳. میکروگراف تهیه شده از نواحی مختلف هیپوکامپ در گروه‌های مورد مطالعه. دانسیته دارک نورونی در گروه PTZ+CIN+ST نسبت به گروه PTZ+NS بیشتر است. پیکان‌های قرمز دارک نورون‌ها را نشان می‌دهد. رنگامیزی تولوئیدین بلو. بزرگنمایی ۴۰X

جدول ۱. میانگین دانسیته دارک نورونی در نواحی مختلف هیپوکامپ

گره	DG	CA3	CA2	CA1
کنترل	19.5±3.4 ^a	14.5±2.6 ^a	16.3±2.5 ^a	10.4±2.8 ^a
PTZ+NS	30.1±4.5 ^b	38.6±6.2 ^b	42.4±6.1 ^b	17.1±2.1 ^b
PTZ+CIN	26.1±3.2 ^c	21.4±5.3 ^c	28.2±4.3 ^c	15.1±1.6 ^b
PTZ+ST	21.8±4.2 ^{ac}	19.1±3.7 ^c	22.5±3.8 ^c	16.4±2.6 ^b
PTZ+CIN+ST	20.9±6.0 ^{ac}	19.7±4.2 ^c	18.7±3.3 ^{ac}	11.9±3.3 ^{ac}

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است. گروه‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند. سطح معنی داری در آزمون تحلیل واریانس یک طرفه $P < 0.05$ در نظر گرفته شده است.

دندانه دار از تشکیلات هیپوکامپ موش‌ها می‌گردد (۲۸). هرچند، نتایج حاصل از اثر تمرینات بدنی بر عملکرد مغز تحت تاثیر شرایطی همچون مراکز عصبی مورد بررسی، سن، جنس، پارامترهای تمرینی اعمال شده مثل شدت یا مدت فعالیت‌های ورزشی (شدت پائین تا متوسط و یا شدت بالا)، سلامتی آزمودنی‌ها و نوع فعالیت‌های ورزشی قرار دارد. پارامترهای تمرینی، از جمله شدت و مدت در کسب نتایج حاصله بسیار مهم هستند (۲۹). کاهش آرتیفکت‌های نورونی در هیپوکامپ پس از تیمار با ترانس سینامیک اسید با بهبود حافظه کاری و کاهش سطح اضطراب همراه بود. از طرف دیگر، در گروه تمرین شنا و ترانس سینامیک اسید (PTZ+CIN+ST) که به ارزیابی تعامل فعالیت شنا و سینامیک اسید می‌پردازد، کاهش معنی‌دار دانسیته دارک نورونی هیپوکامپ (در هر ۴ ناحیه) و میزان اضطراب به همراه بهبود حافظه کاری دیده شد. از آنجایی که استرس اکسیداتیو عامل اصلی دژنراسیون و سبب القاء آسیب اکسیداتیو در هیپوکامپ و آسیب به سلول‌های هرمی می‌شود، آنتی‌اکسیدان‌ها قادر خواهند بود از آسیب سلولی هیپوکامپ جلوگیری کنند. ترانس سینامیک اسید دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و به عنوان مهارگر قوی رادیکال‌های آزاد شناخته می‌شود (۳۰). مصرف مزمن سینامیک اسید در مدل‌های حیوانی باعث پیشگیری یا بهبود عوارض بیماری‌های عصبی همچون بیماری آلزایمر و پارکینسون می‌شود (۳۱). رادیکال‌های آزاد ROS و گونه‌های واکنش پذیر نیتروژن تولید شده در مغز می‌توانند منجر به اکسیداسیون پروتئین، DNA، RNA پراکسیداسیون لیپید و اختلال عملکردی و یا مرگ نورون شوند. سینامیک اسید به عنوان یک حذف کننده قوی ROS و RNS گزارش شده است و در نتیجه احتمال آسیب رادیکال‌های آزاد بر روی پروتئین‌ها را کاهش می‌دهد و اثرات محافظتی در سیستم عصبی دارد (۳۲). به نظر می‌رسد که سینامیک اسید از طریق تنظیم چندین آنزیم کلیدی مانند هموکسیژناز ۱، پروتئین شوک حرارتی ۷۰، سیستم هموکسیژناز/بیلی وردین ردوکتاز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز باعث افزایش پاسخ استرس سلولی می‌شود که مکانیسم عملکرد اصلی این آنزیم‌ها برای مقابله با آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد است. در مقابل سینامیک اسید از بیان و فعالیت آنزیم‌های سیتوکسیک از جمله نیتریک اکسید سنتاز و کاسپازها جلوگیری می‌کند (۳۳). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سه هفته تمرین شنا همراه با مصرف ترانس سینامیک اسید اثر بیشتری بر

نقش گیرنده‌های گابا در اتیولوژی اضطراب نیز مشخص شده است. لذا تغییر در بیان گیرنده گابا منجر به بروز اضطراب در نوزادان موش‌های صحرایی مدل تشنج پری‌ناتال شده است. صرع مادری سبب تغییر شکل ساختاری و عملکردی هیپوکامپ در جنین می‌گردد و این مسئله باعث بروز اختلالات شناختی در آنها می‌شود (۲۴). در واقع، در مطالعه حاضر افزایش تراکم نورون‌های آرتیفکت شده به صورت نورون‌های تیره در رنگ‌آمیزی با آبی تولوئیدین در نواحی مختلف هیپوکامپ به دلیل تغییرات پاتولوژیک ناشی از تشنجات صرعی است که سبب آسیب و مرگ نورونی شده است. در تحقیق حاضر دیده شد که تمرین شنا در مادران در طول پروسه بارداری (سه هفته تمرین) با بهبود حافظه کاری و کاهش میزان اضطراب در نوزادان حاصل، سبب کاهش آسیب سلولی به هیپوکامپ نوزادان می‌گردد به گونه‌ای که دانسیته دارک نورونی در نواحی مختلف هیپوکامپ در گروه PTZ+ST نسبت به گروه PTZ+NS در نواحی CA2، CA3 و DG کاهش قابل توجهی داشته است. دیده شده است که تشنجات پری‌ناتال با تولید رادیکال‌های آزاد سبب القاء استرس اکسیداتیو در سیستم عصبی جنین می‌گردد (۶). استرس اکسیداتیو سهم مهمی در تخریب نورونی و زوال حافظه و یادگیری دارد. مغز به خاطر مطالبه زیاد اکسیژن حساسترین ارگان به آسیب اکسیداتیو است. مصرف بالای اکسیژن باعث کمبود الکترون در زنجیره تنفسی و منجر به تشکیل رادیکال می‌شود و می‌تواند منتهی به استرس اکسیداتیو شود (۲۵). مطالعات گذشته نشان داده است که به دنبال تمرین شنا، افزایش مصرف اکسیژن تولید گونه‌های فعال اکسیژن را به حدی می‌رساند که منجر به بهینه کردن سیگنال‌های اکسیداتیو و تنظیم مسیرهای سیگنال‌دهی و بیان ژنی در مغز می‌شود. این امر منجر به بهبود عملکرد تنفس میتوکندریایی، بیوژنز میتوکندریایی، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در این بافت می‌شود (۲۶). در مطالعه ای نشان داده شد که تمرین شنا سبب بهبود حافظه و یادگیری فضایی و عملکرد هیپوکامپ از طریق مسیر سیگنال‌دهی PSD95/NR2B در نوزادان نر موش صحرایی می‌شود که در دوران جنینی در معرض آتراین قرار داشتند (۲۷). به طور کلی، فعالیت ورزشی منجر به تقویت نورون‌ها، بهبود عملکرد در آزمون‌های رفتاری یادگیری و حافظه، تکثیر سلول‌ها در هیپوکامپ و مهار آپوپتوز و همچنین افزایش پدیده تقویت طولانی مدت در شکنج

بهبود آسیب سلولی، کاهش دانسیته دارک نورونی در هیپوکامپ، بهبود حافظه کاری و کاهش اضطراب نسبت به تمرین شنا و یا تیمار با سینامیک اسید به صورت جداگانه در مدل تشنجات پریناتال با PTZ دارد. با مروری بر مطالعات قبلی به این نتیجه می‌رسیم که تمرین شنا و مصرف سینامیک اسید احتمالاً با مکانیسم اثر یکسان موجب بهبود آسیب سلولی در هیپوکامپ می‌شوند و از این رو مطالعه حاضر نیز در اثر هم افزایی این دو تیمار به اثبات رسید.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

مطالعه حاضر از اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی منطبق با قوانین بین المللی و طبق ضوابط کمیته اخلاقی حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز پیروی نموده است.

حامی مالی

دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز.

نتیجه گیری

در مجموع یافته‌های این پژوهش نشان داد که سه هفته تمرین شنا در دوران بارداری موش‌های صحرایی و مصرف ترانس سینامیک اسید باعث کاهش میزان آسیب سلولی در هیپوکامپ نوزادان مدل تشنج پریناتال می‌شود. با توجه به اینکه در مقایسه با سایر داروهای حفاظت کننده نورونی، آنتی‌اکسیدان‌ها دارای عوارض جانبی بسیار کمتری می‌باشند، و لزوم انجام فعالیت بدنی متوسط در همه مراحل زندگی تاکید شده است در صورت انجام کارآزمایی‌های بالینی جهت تایید این اثرات پیشنهاد می‌شود تمرین شنا و مصرف مکمل ترانس سینامیک اسید برای کاهش اختلالات رفتاری- شناختی و پیشگیری از آسیب هیپوکامپ جنین در مادران مبتلا به صرع استفاده شود.

مشارکت نویسندگان

طراحی و ایده پردازی: محمد امین عدالت منش؛ روش شناسی و تحلیل داده‌ها: محمد علی زارعی؛ نظارت و نگارش نهایی: محمد امین عدالت منش و سید ابراهیم حسینی.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان مقاله حاضر فاقد هرگونه تعارض منافع بوده است.

References

- Zimmern V, Korff C. Status Epilepticus in Children. *J Clin Neurophysiol*. 2020; 37 (5): 429-433. [DOI:10.1097/WNP.0000000000000657]
- Gasparini S, Ferlazzo E, Sueri C, Cianci V, Ascoli M, Cavalli SM, et al. Hypertension, seizures, and epilepsy: a review on pathophysiology and management. *Neurol Sci*. 2019; 40(9):1775-1783. [DOI:10.1007/s10072-019-03913-4]
- Shellhaas RA. Seizure classification, etiology, and management. *Handb Clin Neurol*. 2019; 162: 347-361. [DOI:10.1016/B978-0-444-64029-1.00017-5]
- Andoh M, Ikegaya Y, Koyama R. Microglia modulate the structure and function of the hippocampus after early-life seizures. *J Pharmacol Sci*. 2020; 144 (4): 212-217. [DOI:10.1016/j.jphs.2020.09.003]
- Frank S, Tyson NA. A clinical approach to catamenial epilepsy: a review. *Perm J*. 2020; 24: 1-3. [DOI:10.7812/TPP/19.145]
- Kashif T, Fathima N, Usman N, Qaseem A, Jayaraj JS. Women with epilepsy: anti-epileptic drugs and perinatal outcomes. *Cureus*. 2019; 11 (9): e5642. [DOI:10.7759/cureus.5642]
- Lu Y, Wang X, Feng J, Xie T, Si P, Wang W. Neuroprotective effect of astaxanthin on newborn rats exposed to prenatal maternal seizures. *Brain Res Bull*. 2019; 148:63-69. [DOI:10.1016/j.brainresbull.2019.03.009]
- Jeong JH, Koo JH, Yook JS, Cho JY, Kang EB. Neuroprotective benefits of exercise and MitoQ on memory function, mitochondrial dynamics, oxidative stress, and Neuroinflammation in D-Galactose-induced aging rats. *Brain Sci*. 2021; 11 (2): 164. [DOI:10.3390/brainsci11020164]
- Bhatti GK, Reddy AP, Reddy PH, Bhatti JS. Lifestyle modifications and nutritional interventions in aging-associated cognitive decline and Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*. 2020; 11: 369. [DOI:10.3389/fnagi.2019.00369]
- Toricelli M, Pereira AAR, Souza Abrao G, Malerba HN, Maia J, Buck HS, et al. Mechanisms of neuroplasticity and brain degeneration: strategies for protection during the aging process. *Neural Regen Res*.

- 2021; 16 (1): 58- 67. [DOI:10.4103/1673-5374.286952]
10. Braidy N, Behzad S, Habtemariam S, Ahmed T, Daglia M, Nabavi SM, et al. Neuroprotective Effects of Citrus Fruit-Derived Flavonoids, Nobiletin and Tangeretin in Alzheimer's and Parkinson's Disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2017; 16 (4): 387- 397. [DOI:10.2174/1871527316666170328113309]
11. Ruwizhi N, Aderibigbe BA. Cinnamic acid derivatives and their biological efficacy. *Int J Mol Sci*. 2020; 21 (16): 5712. [DOI:10.3390/ijms21165712]
12. Takao K, Toda K, Saito T, Sugita Y. Synthesis of amide and ester derivatives of Cinnamic acid and its analogs: evaluation of their free radical scavenging and monoamine oxidase and cholinesterase inhibitory activities. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2017; 65 (11): 1020- 1027. [DOI:10.1248/cpb.c17-00416]
13. Safarpour M, Edalatmanesh MA, Hosseini SE, Forouzanfar M. The effect of cinnamic acid on fetal hippocampus in pregnant rats. *Comp Clin Pathol*. 2020; 29: 945- 954. [DOI:10.1007/s00580-020-03118-8]
14. Delaviz M, Edalatmanesh M A. The effect of trans- Cinnamic acid on prenatal seizures induced cognitive deficits. *J Neyshabur Univ Med Sci*. 2019; 7 (3): 104- 118. <http://journal.nums.ac.ir/article-1-718-en.html>
15. Edalatmanesh MA, Khodabandeh H, Yazdani N, Rafiei S. Effect of Cinnamomum Zeylanicum extract on memory and hippocampal cell density in animal model of diabetes. *J Arak Uni Med Sci*. 2018; 21 (6): 56- 66. <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-5738-en.html>
16. Jang Y, Lee B, Kim EK, Shim WS, Yang YD, Kim SM. Involuntary swimming exercise in pregnant rats disturbs ERK1/2 signaling in embryonic neurons through increased cortisol in the amniotic fluid. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018; 495 (1): 1208-1213. [DOI:10.1016/j.bbrc.2017.11.153]
17. Moghadas M, Edalatmanesh MA, Robati R. Histopathological analysis from gallic acid administration on hippocampal cell density, depression, and anxiety related behaviors in a Trimethyltin intoxication model. *Cell J*. 2016; 17 (4): 659- 667. [DOI:10.22074/cellj.2016.3838]
18. Yazdani M, Edalatmanesh M A, Rafiei S. Ameliorative effect of lithium chloride on working and spatial memory deficit in a PTZ-induced seizure model. *Feyz J*. 2017; 21 (2): 110- 117. <http://feyz.kaums.ac.ir/article-1-3339-en.html>
19. Seghatoleslam M, Alipour F, Shafieian R, Hassanzadeh Z, Edalatmanesh MA, Sadeghnia HR, et al. The effects of Nigella sativa on neural damage after pentylenetetrazole induced seizures in rats. *J Tradit Complement Med*. 2015; 6 (3): 262-8. [DOI:10.1016/j.jtcme.2015.06.003]
20. Alachkar A, Ojha SK, Sadeq A, Adem A, Frank A, Stark H, et al. Experimental models for the discovery of novel anticonvulsant drugs: focus on Pentylenetetrazole- induced seizures and associated memory deficits. *Curr Pharm*. 2020; 26 (15): 1693- 1711. [DOI:10.2174/1381612826666200131105324]
21. Rajabzadeh A, Bideskan AE, Fazel A, Sankian M, Rafatpanah H, Haghiri H. The effect of PTZ-induced epileptic seizures on hippocampal expression of PSA-NCAM in offspring born to kindled rats. *J Biomed Sci*. 2012; 19 (1): 56. [DOI:10.1186/1423-0127-19-56]
22. Yu X, Guan Q, Wang Y, Shen H, Zhai L, Lu X, et al. Anticonvulsant and anti-apoptosis effects of salvianolic acid B on pentylenetetrazole-kindled rats via AKT/CREB/BDNF signaling. *Epilepsy Res*. 2019; 154: 90- 96. [DOI:10.1016/j.epilepsyres.2019.05.007]
23. Villalpando-Vargas F, Medina-Ceja L, Santerre A, Enciso-Madero EA. The anticonvulsant effect of sparteine on pentylenetetrazole-induced seizures in rats: a behavioral, electroencephalographic, morphological and molecular study. *J Mol Histol*. 2020; 51 (5): 503- 518. [DOI:10.1007/s10735-020-09899-0]
24. Şahin S, Gürgen SG, Yazar U, İnce İ, Kamaşak T, Acar Arslan E, et al. Vitamin D protects against hippocampal apoptosis related with seizures induced by kainic acid and pentylenetetrazol in rats. *Epilepsy Res*. 2019; 149: 107- 116. [DOI:10.1016/j.epilepsyres.2018.12.005]

25. Salim S. Oxidative Stress and the Central Nervous System. *J Pharmacol Exp Ther.* 2017; 360 (1): 201- 205. [DOI:10.1124/jpet.116.237503]
26. Marcelino TB, Longoni A, Kudo KY, Stone V, Rech A, de Assis AM, et al. Evidences that maternal swimming exercise improves antioxidant defenses and induces mitochondrial biogenesis in the brain of young Wistar rats. *Neuroscience.* 2013; 246: 28- 39. [DOI:10.1016/j.neuroscience.2013.04.043]
27. Wang D, Li B, Wu Y, Li B. The Effects of maternal atrazine exposure and swimming training on spatial learning memory and hippocampal morphology in offspring male rats via PSD95/NR2B signaling pathway. *Cell Mol Neurobiol.* 2019; 39 (7): 1003-1015. [DOI:10.1007/s10571-019-00695-3]
28. Sui SX, Williams LJ, Holloway-Kew KL, Hyde NK, Pasco JA. Skeletal muscle health and cognitive function: a narrative review. *Int J Mol Sci* 2020; 22 (1): 255. [DOI:10.3390/ijms22010255]
29. Cherif A, Roelands B, Meeusen R, Chamari K. Effects of intermittent fasting, caloric restriction, and ramadan intermittent fasting on cognitive performance at rest and during exercise in adults. *Sports Med.* 2016; 46 (1): 35- 47. [DOI:10.1007/s40279-015-0408-6]
30. Carter NS, Stamper BD, Elbarbry F, Nguyen V, Lopez S, Kawasaki Y, et al. Natural products that target the arginase in *Leishmania* parasites hold therapeutic promise. *Microorganisms.* 2021; 9 (2): 267. [DOI:10.3390/microorganisms9020267]
31. Abazari MF, Nasiri N, Karizi SZ, Nejati F, Haghi-Aminjan H, Norouzi S, et al. An updated review of various medicinal applications of p-coumaric acid: From antioxidative and anti-inflammatory properties to effects on cell cycle and proliferation. *Mini Rev Med Chem.* 2021. [DOI:10.2174/1389557521666210114163024]
32. Pontiki E, Peperidou A, Fotopoulos I, Hadjipavlou-Litina D. Cinnamate hybrids: a unique family of compounds with multiple biological activities. *Curr Pharm Biotechnol.* 2018; 19 (13): 1019- 1048. [DOI:10.2174/1389201019666181112102702]
33. Chainoglou E, Siskos A, Pontiki E, Hadjipavlou-Litina D. Hybridization of curcumin analogues with Cinnamic acid derivatives as multi- target agents against Alzheimer's disease targets. *Molecules.* 2020; 25 (21): 4958. [DOI:10.3390/molecules25214958]