

The Effect of Hesperidin on the Cognitive-Behavioral Deficit in a Rat Model of Pentylentetrazole-Induced Perinatal Seizures

Habibollah Khodabandeh, Shaghayegh Keshavarzi, Pariya Moradian, Mohammad Amin Edalatmanesh*

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

Article Info:

Received: 29 Dec 2019

Revised: 13 April 2020

Accepted: 10 May 2020

ABSTRACT

Introduction: Perinatal seizure with inducing oxidative stress causes serious damage to the fetal central nervous system and leads to cognitive-behavioral deficits. This study evaluates the effect of Hesperidin (HES) on cognitive and behavioral deficits in rats following perinatal seizures. **Materials and Method:** 30 Wistar pregnant rats were randomly divided into 5 groups: control, pentylentetrazole (PTZ) + NS, PTZ + HES 25, PTZ + HES 50, and PTZ + HES 100. Animals were treated with repeated PTZ administration (40 mg/kg, intraperitoneally) from gestation day 14 for 5 consecutive days. Two hours before PTZ injection, the PTZ+NS group and the PTZ+HES groups were gavaged with either normal saline or HES (25, 50, or 100 mg/kg), respectively. The severity of seizure, delay in onset of a seizure in mothers, working and avoidance memory, and anxiety-like behaviors were assessed in one-month-old male infants. **Results:** A significant increase in seizure severity and a decrease in seizure delay were seen in PTZ-treated mothers. On the other hand, a significant decrease in behavior changes, avoidance memory, and hippocampal cell density was observed with increased anxiety levels in the infant of the PTZ+NS group compared to the control rats. However, HES-treated groups showed a significant increase in working and passive avoidance memory with a decreasing level of anxiety compared to the PTZ+NS group. **Conclusion:** HES has anticonvulsant, anxiolytic, and memory-enhancing effects in the perinatal seizures in rats.

Key words:

1. Seizures
2. Pregnancy
3. Cognition
4. Rats

*Corresponding Author: Mohammad Amin Edalatmanesh

E-mail: amin.edalatmanesh@gmail.com



اثر هسپریدین بر آسیب‌شناختی-رفتاری در مدل تشنج پری‌ناتال القاء شده با پنتیلین تترازول در موش صحرایی

حبیب‌الله خدابنده، شقایق کشاورزی، پریا مرادیان، محمدامین عدالت منش*

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

اطلاعات مقاله:

پذیرش: ۲۱ اردیبهشت ۱۳۹۹

اصلاحیه: ۲۵ فروردین ۱۳۹۹

دریافت: ۸ دی ۱۳۹۸

چکیده

مقدمه: تشنج پری‌ناتال با القاء تنش اکسیداتیو، آسیب جدی به سیستم عصبی مرکزی جنین وارد می‌کند و منجر به اختلالات شناختی-رفتاری می‌گردد. این مطالعه به ارزیابی اثر هسپریدین بر اختلالات شناختی و رفتاری در موش‌های صحرایی متعاقب تشنج پری‌ناتال می‌پردازد. **مواد و روش‌ها:** ۳۰ سر موش صحرایی ماده باردار ویستار به صورت تصادفی در ۵ گروه کنترل، PTZ+NS، PTZ+HES25، PTZ+HES50 و PTZ+HES 100 تقسیم شدند. از روز ۱۴ بارداری، حیوانات با تجویز مکرر پنتیلین تترازول (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، درون صفاقی) به مدت ۵ روز متوالی تحت درمان قرار گرفتند. دو ساعت قبل از تزریق PTZ، گروه PTZ+NS و گروه‌های PTZ+HES (در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به ترتیب با نرمال‌سالین و هسپریدین گاوآژ شدند. شدت تشنج، تأخیر در شروع تشنج در مادران، حافظه کاری و اجتنابی و رفتارهای شبه اضطرابی در نوزادان نر یک ماهه ارزیابی شد. **یافته‌ها:** افزایش معنی‌دار شدت تشنج و کاهش در تأخیر تشنج در مادران تحت درمان با PTZ مشاهده شد. از طرفی کاهش معنی‌داری در تغییرات رفتاری، حافظه اجتنابی و تراکم سلول هیپوکامپ با افزایش سطوح اضطراب در نوزادان گروه PTZ+NS در مقایسه با موش‌های صحرایی گروه کنترل دیده شد. هرچند گروه‌های تیمار شده با هسپریدین، افزایش معنی‌داری را در حافظه کاری و اجتنابی غیرفعال به همراه کاهش سطح اضطراب در مقایسه با گروه PTZ+NS نشان دادند. **نتیجه‌گیری:** هسپریدین دارای اثرات ضد تشنجی، ضد اضطراب و تقویت‌کننده حافظه در تشنجات پری‌ناتال در موش‌های صحرایی است.

کلید واژه‌ها:

۱. تشنج
۲. بارداری
۳. شناخت
۴. موش‌های صحرایی

*نویسنده مسئول: محمدامین عدالت منش

آدرس الکترونیکی: amin.edalatmanesh@gmail.com

مقدمه

مصرف داروهای ضد صرع در چندین دهه اخیر با عوارض جانبی متعددی روبه‌رو بوده است. مصرف این داروها خصوصاً در زنان باردار با دارا بودن اثرات منفی بر مغز جنین و نقصان عملکردهای شناختی، اجتناب‌ناپذیر بوده است. بنابراین، یافتن دارویی که تشنج و عوامل بروز آن را متوقف کند و یا داروهای همراهی که از اختلالات شناختی ناشی از آن جلوگیری کند، ضروری به نظر می‌رسد (۱۲). از طرفی، بروز حملات تشنجی سبب تشدید استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ مغز می‌شود که از دلایل عمده دژنراسیون نورونی و نقص یادگیری و حافظه در مدل‌های آزمایشگاهی به شمار می‌آید (۱۳).

فلاونوئیدها ترکیبات پلی‌فنلی آروماتیک هستند که بر اساس وضعیت اکسیداسیون حلقه هیدروسیکلیک دسته‌بندی می‌شوند و به دلیل وجود گروه‌های هیدروکسیل این ترکیبات خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی در برابر رادیکال‌های آزاد ناشی از استرس‌های اکسیداتیو و نقش محافظتی دارند (۱۴). هسپریدین به‌عنوان یک فلاوانون از خانواده فلاونوئیدها از پوست مرکبات استخراج و به دلیل فعالیت بیولوژیکی به آن بیوفلاونوئید اطلاق شد (۱۵). توانایی حذف آنیون‌های هیدروکسیل و سوپر اکسید توسط سیستم آنتی‌اکسیدانی قوی این ترکیب، سلول‌ها را محافظت می‌کند (۱۶). بنابراین، افزایش سطح آنتی‌اکسیدانی در طول تیمار با هسپریدین باعث کاهش حمله رادیکال‌های آزاد به مولکول‌های زیستی از قبیل DNA و لیپیدهای غشایی می‌شود. نقش حفاظتی هسپریدین با متوقف کردن رادیکال‌های آزاد تشکیل شده ناشی از تشنج و در پی آن احیای سطوح آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی نشان داده شده است (۱۷). در این پژوهش از پنتیلن تترازول (PTZ)^۱ که آنتاگونیست گیرنده‌های گابا^۲ است، استفاده شد. این ترکیب با مسدود نمودن گیرنده‌های گابا موجب برهم زدن تعادل بین سیستم ناقلین عصبی^۳ تحریک - مهار می‌گردد. در صورت تزریق مکرر PTZ آتروفی هیپوکامپ و از بین رفتن نورون‌ها رخ می‌دهد و در نتیجه صرع در مدل‌های حیوانی القاء می‌شود (۱۸). هدف از این مطالعه بررسی اثر هسپریدین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی بر اختلالات شناختی - رفتاری در مدل موش صحرایی تشنج پری‌ناتال القا شده با PTZ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

شرایط نگهداری حیوانات و القاء تشنج

در این پژوهش از نوزادان حاصل از آمیزش ۳۰ سر موش صحرایی ماده باکره با میانگین وزنی 10 ± 180 گرم و ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ با میانگین وزنی 10 ± 250 گرم استفاده شد. حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه و

تشنجات میوکلونیک با اختلال در عملکرد میانجی‌های عصبی، تغییرات هیستوپاتولوژیکی در مغز را به همراه دارند (۱). تشنج و حملات صرعی ناشی از تحریک‌پذیری نادرست نورونی و تخلیه‌های خود به خودی و مکرر در نواحی مختلف مغزی است (۲). تشنج، مرگ سلولی را در سیستم عصبی القاء می‌کند. اولین تغییراتی که در اثر تکرار طولانی‌مدت این پدیده رخ می‌دهد، مرگ انتخابی سلول‌های مغزی و تشدید استرس اکسیداتیو خصوصاً در ناحیه هیپوکامپ را به دنبال دارد (۳). هیپوکامپ، به‌عنوان بخش مهمی از مغز، نقش مهمی در یادگیری و حافظه اکتسابی دارد و آسیب به این ناحیه باعث کاهش کیفیت زندگی، زوال شناخت و نقصان حافظه می‌گردد (۴). مکانیسم دقیق شروع تشنج ناشناخته است. با این وجود، اکثر محققان معتقدند که دلیل آن نقص و تغییر در مهارکننده‌های عصبی به‌ویژه GABA، سیستم‌های گلوتاماترژیک و کولینرژیک می‌باشد (۵). از میان تعداد افراد مبتلا به صرع در جهان، بیش از ۷۵ درصد آن‌ها در کشورهای در حال توسعه و فقیر که فاقد خدمات درمانی مناسب می‌باشند، زندگی می‌کنند (۶). بنابراین، تلاش برای کنترل تشنج و در نتیجه جلوگیری از اختلالات شناختی به طور قابل توجهی می‌تواند باعث بهبود زندگی افراد مبتلا به این عارضه گردد. هر چند، عوامل متعددی مانند نوروپاتولوژی زمینه‌ای، نوع تشنج، سن شروع تشنج، مشکلات روانی و عوارض دارو درمانی بر اختلالات ناشی از تشنج مؤثر باشند (۷).

به نظر می‌رسد میزان باروری در زنان مصروع نسبت به زنان نرمال کمتر باشد. دلایل متعددی مانند کاهش میل جنسی، مسائل اجتماعی، اختلالات ژنتیکی و عوارض داروهای ضد صرع سبب کاهش نرخ زادآوری و مرگ و میر جنین در زنان مبتلا به صرع می‌گردد (۸). در این زنان مصرف داروهای ضد تشنج در دوران بارداری تأثیر 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، تأخیر در رشد، عقب‌افتادگی ذهنی، میکروسفالی و اختلالات شناختی را می‌تواند به دنبال داشته باشد (۹). بین مصرف داروهای ضد تشنج در دوران بارداری و تأثیر منفی آن بر تکامل عصبی حرکتی پس از تولد در طولانی‌مدت ارتباط مستقیم دیده شده است (۱۰). اغلب فرزندان مادران مصروع که سابقه تشنج یا مصرف داروهای ضد تشنج در دوران بارداری دارند، نسبت به کودکان نرمال عملکردهای شناختی ضعیف‌تری دارند. این قبیل کودکان نیازمند آموزش‌های بیشتر هستند و از عقب‌ماندگی خفیف تا متوسط رنج می‌برند (۱۱).

¹ Pentylentetrazole

² Receptors

³ Neurotransmitter

نر (دو تا سه نوزاد نر از هر مادر) به طور تصادفی انتخاب و جهت مطالعات رفتاری مورد استفاده قرار گرفتند. مرگ و میر مادران حین تشنج یا پس از آن، سقط جنین، مرده‌زایی، کاهش وزن و اختلالات فیزیکی نوزادان سبب محدودیت در انجام مطالعه و معیار خروج حیوانات از مطالعه حاضر می‌باشد. پس از ۲۱ روز، نوزادان زنده و مرده تفکیک و نواقص ریخت‌شناسی^۵ بررسی شد. نوزادان پس از ۲۴ روز از شیر گرفته و در قفس‌های جداگانه در گروه‌های ۵ تایی نگهداری شدند و آزمون‌های رفتاری در ۳۰ روزگی بر روی آن‌ها انجام گرفت.

آزمون ارزیابی حافظه اجتنابی غیرفعال

این آزمون به کمک دستگاه شاتل باکس انجام شد. این دستگاه شامل دو اتاقک هم اندازه یکی روشن و دیگری تاریک است که توسط یک درب گیوتینی به هم ارتباط دارند. در کف اتاقک‌ها میله‌های استیل متصل به سیستم الکتروشوک قرار دارد. یکی از اتاقک‌ها دارای محرک نور می‌باشد. در روز اول حیوان وارد محفظه روشن شده و اجازه داده شد تا خودش وارد محفظه تاریک شود (مرحله سازش). مدت زمان تأخیر در ورود به محفظه تاریک و مدت زمان باقی ماندن در محفظه تاریک و روشن در یک بازه زمانی ۵ دقیقه‌ای ثبت گردید. در روز بعد پس از ورود حیوان به محفظه تاریک بلافاصله درب گیوتینی محفظه بسته شد و یک شوک ۲ میلی‌آمپری و ۵۰ هرتزی به مدت ۲ ثانیه از طریق میله‌های فلزی کف محفظه تاریک به حیوان وارد شد. سپس درب محفظه را برداشته تا حیوان خود وارد محفظه روشن شود. بدیهی است که حیوان پس از ورود به محفظه تاریک تمایلی برای بازگشت به محفظه تاریک ندارد مگر اینکه فراموش کند (مرحله آموزش). ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از وارد شدن شوک، حیوان مجدد وارد محفظه روشن شد. مدت زمان تأخیر در ورود به محفظه تاریک و مدت زمان باقی ماندن در محفظه تاریک در طول ۵ دقیقه ثبت گردید. در این مرحله حیوان پس از ورود به محفظه تاریک شوکی دریافت نکرد. این آزمون سه بار در روز و با فواصل یک ساعت از هم تکرار شد (۲۱).

آزمون ارزیابی حافظه کاری

سنجش حافظه کاری از طریق مشاهده و اندازه‌گیری رفتار تناوب خود به خودی حیوان از طریق آزمون ماز Y در یک مرحله ارزیابی شد. ماز مربوط به این آزمون از سه بازو با ابعاد هر بازو ۶۰×۱۵×۱۵ سانتی‌متر تشکیل شده است که از طریق یک محوطه مرکزی مثلث شکل بهم متصل هستند. جهت انجام آزمون هر حیوان در قسمت انتهایی یک بازو قرار گرفت به طوری که دسترسی آزاد حیوان به سایر قسمت‌های ماز در دوره زمانی ۵ دقیقه‌ای امکان‌پذیر شد. موش‌ها به طور معمول ترجیح می‌دهند، به

به‌منظور سازگاری با شرایط جدید، به مدت یک هفته در محیط نگهداری شدند. در کلیه مراحل کار، حیوانات در شرایط استاندارد دمایی 25 ± 2 درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی 50 ± 10 درصد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته (۶ صبح تا ۶ عصر) قرار داده شدند. قبل از جفت‌گیری جهت تعیین موش‌های صحرائی که در شرایط استروس سیکل جنسی و آمادگی جهت آمیزش قرار داشتند، اسمیر واژنی تهیه شد. به این ترتیب که به کمک سمپلر ۰/۳ میلی‌لیتر نرمال سالین به داخل واژن حیوان تزریق شد و سپس یک قطره از مایع واژینال برداشته و اسمیر تهیه شد. نمونه‌های اسمیر بعد از رنگ‌آمیزی با گیمسا در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر بررسی شدند. وجود سلول‌های شاخی بدون هسته در نمونه اسمیر حیوان که نشان‌دهنده سیکل استروس است، دلیل انتخاب و هم قفس شدن آن‌ها با موش‌های صحرائی نر در ساعات اولیه غروب آفتاب بود. جهت اطمینان از جفت‌گیری، در اولین ساعات صبح پس از هم قفس شدن، حیوانات ماده مورد بررسی قرار گرفتند. با وجود پلاک واژینال یا مشاهده اسپرمانوزوآ در اسمیر واژنی، زمان صفر بارداری مشخص شد. موش‌های صحرائی باردار به صورت تصادفی در ۵ گروه ۶ تایی: گروه کنترل سالم، PTZ+NS (گروه دریافت‌کننده پنتیلین تترازول و نرمال سالین)، PTZ+HES25 (گروه دریافت‌کننده پنتیلین تترازول و هسپریدین با دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، PTZ+HES50 (گروه دریافت‌کننده پنتیلین تترازول و هسپریدین با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و PTZ+HES100 (گروه دریافت‌کننده پنتیلین تترازول و هسپریدین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. تجویز پنتیلین تترازول با دوز تکرارشونده 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 پنتیلین تترازول جهت رفتار تشنج بررسی شدند (۱۹).

نمره ۰: عدم پاسخ، نمره ۱: بیش‌فعالی، لرزش، کشش، نمره ۲: تکان سر، تشنج عضلانی سر و پرش میوکلونیک، نمره ۳: تشنج عضلانی یکطرفه عضو جلو، نمره ۴: گسترش تشنجات با تشنج عضلانی دو جانبه عضو جلو، نمره ۵: تشنج کلونیک تونیک عمومی^۴ همراه با رفلکس کشیدگی بدن (۲۰).

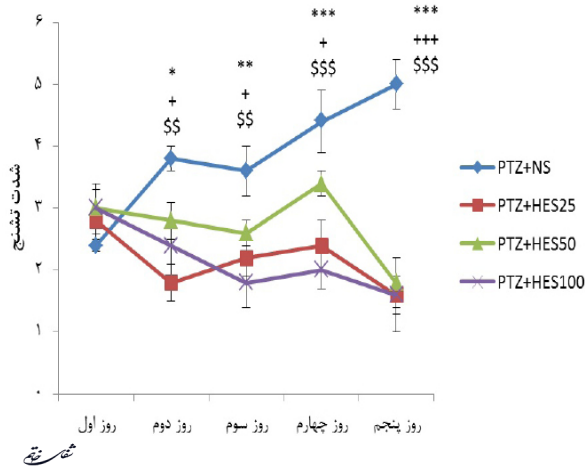
به‌منظور ارزیابی اثرات حفاظت‌کننده عصبی هسپریدین بر عملکردهای شناختی و رفتاری، هسپریدین (Sigma, USA) به صورت گاوژ یکبار در روز با سه دوز ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و دو ساعت قبل از تزریق PTZ به مدت ۵ روز تجویز شد.

بعد از تولد نوزادان از بین تمامی زاده‌های حاصل از ۶ موش صحرائی باردار در هر گروه، تعداد ۱۵ سر نوزاد

^۴ Generalized tonic clonic seizure

^۵ Morphology

روز چهارم و پنجم ($P < 0.0001$) اختلاف معنی‌داری دیده شد. در گروه PTZ+HES50 نسبت به گروه PTZ+NS روز دوم، روز سوم، روز چهارم ($P < 0.05$) و روز پنجم اختلاف معنی‌داری در سطح $P < 0.0001$ دیده شد. همچنین، بین گروه PTZ+HES25 در روز دوم و سوم ($P < 0.01$) و روزهای چهارم و پنجم ($P < 0.0001$) اختلاف معنی‌داری وجود داشت (نمودار ۱). نتایج حاصل از این آزمون نشان داد که شدت تشنج با تجویز هسپریدین در دوران بارداری کاهش می‌یابد.



نمودار ۱

نمودار ۱- مقایسه میانگین \pm انحراف استاندارد شدت تشنج در گروه‌های مختلف. نتایج نشان می‌دهد که بین گروه PTZ+NS با گروه PTZ+HES100، در روز دوم، سوم، چهارم و پنجم ($P < 0.05$) و $P < 0.0001$ و بین گروه PTZ+NS با گروه PTZ+HES50 در روزهای دوم، سوم، چهارم و پنجم ($P < 0.05$) و $P < 0.0001$ و با گروه PTZ+HES25 در روزهای دوم، سوم، چهارم و پنجم اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P < 0.01$ و $P < 0.0001$).

اثر هسپریدین بر تأخیر در شروع تشنج

نتایج حاصل نشان داد که بروز اولین نشانه‌های تشنج (تأخیر در شروع تشنج) با تجویز هسپریدین کاهش می‌یابد. تجویز هسپریدین دو ساعت قبل از تزریق درون صفاقی PTZ، تأخیر در شروع تشنج ناشی از PTZ را به طور قابل توجهی افزایش داد. هرچند اختلاف معنی‌داری بین دوزهای مختلف هسپریدین در روزهای اول و دوم دیده نشد. با این حال نتایج نشان می‌دهد که با افزایش دوز هسپریدین تأخیر در آغاز تشنج در روزهای سوم تا پنجم افزایش می‌یابد و در روز چهارم و پنجم بین گروه PTZ+HES25 با دو گروه PTZ+HES50 و PTZ+HES100 اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P < 0.0001$). ظاهراً اثر هسپریدین وابسته به دوز می‌باشد. به گونه‌ای که در دوز حداکثری ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از روز اول تا روز پنجم کاهش قابل توجهی نسبت به گروه PTZ+NS دیده شد (نمودار ۲).

بررسی بازوی جدید پردازند و تمایلی برای بازگشت به بازویی که آن را قبلاً دیده‌اند، ندارند مگر آن را فراموش کرده باشند. ورود حیوان به داخل هر بازو با مشاهده ثبت گردید. رفتار تناوب به‌عنوان ورودهای موفق و پشت سر هم به داخل تمام بازوها در مجموعه‌های سه‌تایی در نظر گرفته شد. از این رو درصد حافظه کاری بدین ترتیب محاسبه گردید: حاصل جمع ورودهای موفق غیرتکراری تقسیم بر (ورودهای کل بازوهای واردشده - ۲) $\times 100$ (۲۱).

آزمون ارزیابی اضطراب

به کمک آزمون صلیبی مرتفع، سنجش میزان ترس و اضطراب در گروه‌های مورد بررسی انجام شد. در این آزمون موش‌ها به مدت ۵ دقیقه درون ماز قرار گرفتند که شامل دو بازوی باز مقابل هم و دو بازوی بسته در مقابل هم می‌باشند. ابعاد بازوها $50 \times 10 \times 60$ سانتی‌متر می‌باشد. میانگین مدت زمان باقی ماندن در بازوهای بسته نشان‌دهنده میزان ترس و اضطراب در حیوانات است و میانگین مدت زمان باقی ماندن در بازوهای باز نشان‌دهنده عدم اضطراب و کنجکاو می‌باشد. قبل از شروع آزمون، حیوانات به مدت ۱۵ دقیقه جهت آشنایی در محیط ماز قرار گرفتند. حیوان به آرامی و بدون وارد کردن هر گونه استرس در مرکز ماز قرار گرفت و به مدت ۵ دقیقه رفتار آن بررسی شد. بدین صورت که مدت زمان قرار گرفتن حیوان در هر یک از بازوهای باز و بسته ثبت گردید. این آزمون با سه تکرار در دو روز متوالی انجام شد (۲۲).

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۳ انجام شد. آزمون آنالیز واریانس یکطرفه، آنالیز واریانس تکرارشونده^۷ و آزمون تعقیبی توکی جهت تعیین تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مورد نظر استفاده شد و مقادیر $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اثر هسپریدین بر شدت تشنج در مادران باردار

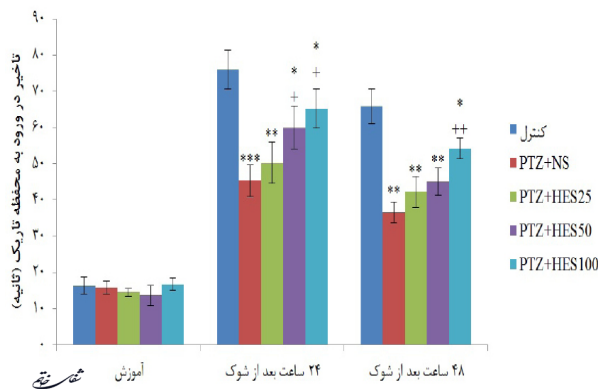
نتایج حاصل از آنالیز واریانس تکرارشونده و تست تعقیبی توکی نشان داد که میزان تشنج در مادرانی که ۲ ساعت قبل از تجویز درون صفاقی PTZ، هسپریدین دریافت کرده‌اند نسبت به گروهی که قبل از دریافت PTZ، تنها نرمال سالین را به‌عنوان حلال هسپریدین دریافت نموده است (PTZ+NS) به طور قابل توجهی از روز دوم تا پنجم کاهش می‌یابد. به گونه‌ای که در گروه PTZ+HES100 نسبت به گروه PTZ+NS در روز دوم ($P < 0.05$)، روز سوم ($P < 0.01$) و

⁶ One-way ANOVA

⁷ Repeated measure ANOVA

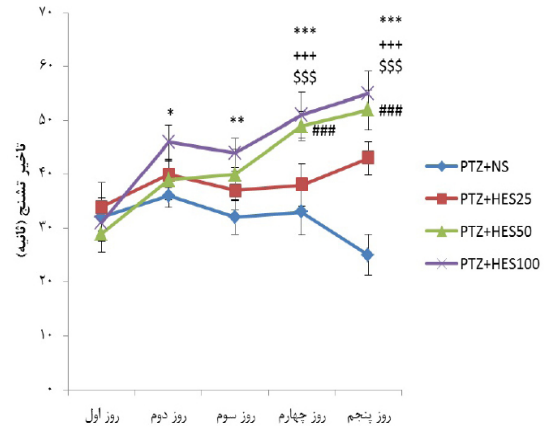
ارزیابی حافظه اجتنابی با استفاده از آزمون شاتل باکس

نتایج تأخیر در ورود به اتاق تاریک قبل از اعمال شوک و در مرحله آموزش تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و PTZ+NS نشان نمی‌دهد. همچنین، بین گروه کنترل با سایر گروه‌های تیمار با هسپریدین نیز در مرحله آموزش و قبل از شوک اختلاف معنی‌داری دیده نشد (نمودار ۴). نتایج تأخیر زمانی در ورود به اتاق تاریک آزمون شاتل باکس، ۲۴ ساعت پس از از القاء شوک نشان داد که بین گروه کنترل با گروه‌های PTZ+NS، PTZ+HES25، PTZ+HES50 و PTZ+HES100 اختلاف معنی‌داری وجود دارد (به ترتیب: $P < 0.0001$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.05$ و $P < 0.05$). در واقع بین گروه PTZ+NS با گروه PTZ+HES25 اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. ولی در سطح $P < 0.05$ بین گروه PTZ+NS با گروه‌های PTZ+HES50 و PTZ+HES100 اختلاف معنی‌داری دیده شد (نمودار ۴). بعد از گذشت ۴۸ ساعت از القاء شوک، بین گروه کنترل با گروه‌های PTZ+NS، PTZ+HES25، PTZ+HES250 و PTZ+HES100 اختلاف معنی‌داری دیده شد (به ترتیب: $P < 0.01$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.05$ و $P < 0.01$). همچنین، بین گروه PTZ+NS و گروه دریافت‌کننده هسپریدین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.01$).



نمودار ۴- مقایسه میانگین ± انحراف استاندارد مدت تأخیر در ورود به محفظه تاریک. در مرحله آموزش اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود ندارد. ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از القاء شوک بین گروه کنترل با گروه‌های PTZ+NS، PTZ+HES25، PTZ+HES50 و PTZ+HES100 اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P < 0.0001$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.05$ و $P < 0.05$). بین گروه PTZ+NS و گروه‌های دریافت‌کننده هسپریدین با دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در ۲۴ ساعت و با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم، ۴۸ ساعت پس از القاء شوک اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.01$ و $P < 0.05$).

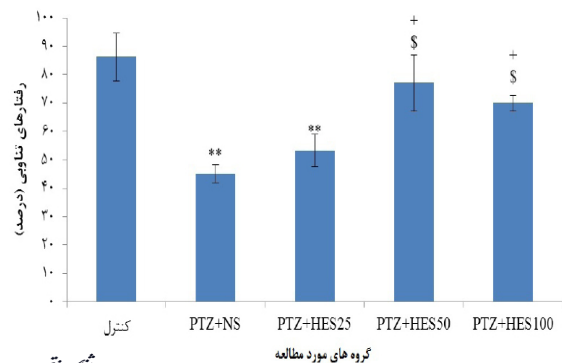
در گروه PTZ+NS در محفظه تاریک، ۲۴ ساعت پس از القاء شوک نشان می‌دهد که با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.0001$). بین گروه کنترل با گروه PTZ+HES25 در سطح $P < 0.0001$ و با گروه‌های PTZ+HES50 و PTZ+HES100 در سطح $P < 0.01$ اختلاف معنی‌داری دیده شد. بین گروه PTZ+NS و هر سه گروه تیمار با هسپریدین نیز اختلاف معنی‌داری دیده می‌شود (به ترتیب: $P < 0.01$ ، $P < 0.0001$ و $P < 0.0001$).



نمودار ۳

نمودار ۳- مقایسه میانگین ± انحراف استاندارد تأخیر تسنج در گروه‌های مختلف. نتایج نشان می‌دهد که بین گروه PTZ+NS با گروه PTZ+HES100 در روز دوم، سوم، چهارم و پنجم اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.0001$ و $P < 0.0001$). همچنین، بین گروه PTZ+NS با گروه PTZ+HES50 در روزهای چهارم و پنجم ($P < 0.0001$) و با گروه PTZ+HES25 نیز در روزهای چهارم و پنجم اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P < 0.0001$ ، $P < 0.0001$). از طرفی، بین گروه PTZ+HES25 با گروه‌های PTZ+HES50 و PTZ+HES100 در روز چهارم و پنجم اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P < 0.0001$).

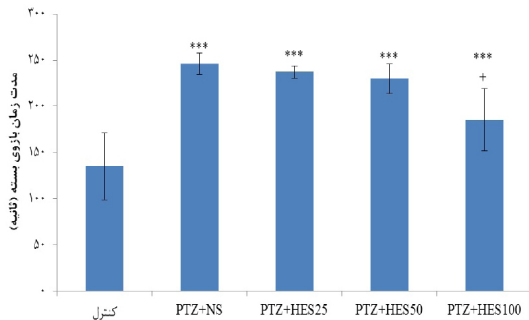
ارزیابی حافظه کاری با استفاده از آزمون ماز Y نتایج نشان داد که درصد تناوب حرکتی که نشان‌دهنده حافظه کاری در جوندگان است، در گروه PTZ+NS نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0.01$). از طرفی، تجویز هسپریدین در گروه دریافت‌کننده دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن توانسته است سبب بهبود حافظه کاری گردد و افزایش معنی‌داری نسبت به گروه PTZ+NS دارد ($P < 0.05$). با اینکه تفاوتی بین گروه‌های PTZ+HES50 و PTZ+HES100 با یکدیگر وجود ندارد ولی سطح رفتارهای تناوبی در گروه PTZ+HES50 و PTZ+HES100 نسبت به گروه PTZ+HES25 افزایش معنی‌داری دارد ($P < 0.01$ ، نمودار ۳).



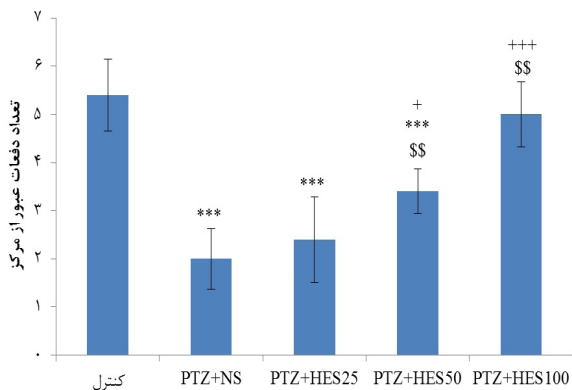
نمودار ۳

نمودار ۳- مقایسه میانگین ± انحراف استاندارد درصد تناوب صحیح حرکتی در گروه‌های مختلف. نتایج نشان می‌دهد که بین گروه کنترل با گروه PTZ+NS و PTZ+HES25 اختلاف معنی‌داری است ($P < 0.01$). بین گروه‌های PTZ+HES100 و PTZ+HES50 با گروه PTZ+NS نیز اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P < 0.05$). همچنین، بین گروه‌های PTZ+HES100 و PTZ+HES50 با گروه PTZ+HES25 اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$).

ماهگی گردید. به گونه‌ای که میزان دفعات عبور از مرکز ماز در گروه‌های PTZ+HES50 و PTZ+HES100 نسبت به گروه PTZ+NS افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد (به ترتیب: $P < 0.05$ و $P < 0.001$) - (نمودار ۷).



نمودار ۶ - مقایسه میانگین ± انحراف استاندارد مدت زمان باقی ماندن در بازوی بسته ماز صلیبی مرتفع در گروه‌های مختلف. نتایج نشان می‌دهد که بین گروه کنترل و همچنین بین گروه کنترل و گروه‌های تیمار در هر سه دوز اختلاف معنی‌دار دیده می‌شود ($P < 0.001$). بین گروه PTZ+NS و گروه PTZ+HES100 اختلاف معنی‌دار دیده شد ($P < 0.05$).

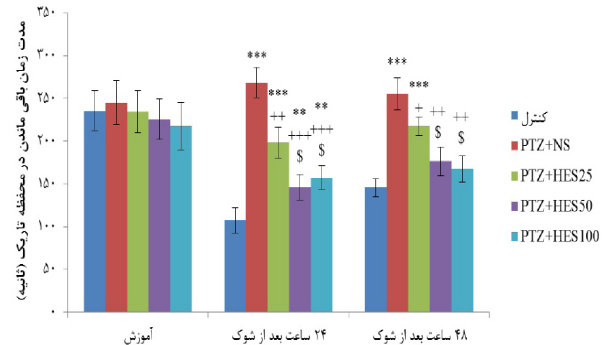


نمودار ۷ - مقایسه میانگین ± انحراف استاندارد تعداد دفعات عبور از مرکز ماز مرتفع صلیبی در گروه‌های مختلف. نتایج نشان می‌دهد که بین گروه کنترل با گروه‌های PTZ+NS، PTZ+HES25 و PTZ+HES50 اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.001$). همچنین، بین گروه PTZ+NS با گروه PTZ+HES50 و PTZ+HES100 اختلاف معنی‌دار دیده می‌شود ($P < 0.05$ و $P < 0.001$). بین گروه PTZ+HES25 با گروه‌های PTZ+HES50 و PTZ+HES100 اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر اختلال در حافظه کاری و حافظه اجتنابی غیرفعال را به همراه افزایش میزان اضطراب به دنبال تشنجهای تکرارشونده در دوره پرناتال موش‌های صحرائی نشان داد. آسیب‌های شناختی و بروز رفتارهای شبه اضطرابی تا ۳۰ روزگی در گروه PTZ+NS نشان از اثرات دائمی آسیب‌های ناشی از تشنجات پرناتال بر مغز جنین دارد. از روش‌های ایجاد صرع در حیوانات آزمایشگاهی تجویز مستمر پنتیلن تترازول می‌باشد. ارزیابی جنین موش‌هایی که در دوره بارداری تشنج با تزریق PTZ

بررسی‌های آماری صورت گرفته پس از ۴۸ ساعت از القاء شوک نشان می‌دهد که بین گروه کنترل با گروه‌های PTZ+NS و گروه PTZ+HES25 نیز اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P < 0.001$). بین گروه PTZ+NS و گروه‌های تحت تیمار با هسپریدین در هر دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم ($P < 0.01$) و با گروه PTZ+HES25 ($P < 0.05$) اختلاف معنی‌داری وجود دارد. از طرفی، بین گروه PTZ+HES25 با دو گروه PTZ+HES50 و PTZ+HES100 در هر دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از القاء شوک اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P < 0.05$)، نمودار ۵).



نمودار ۵ - مقایسه میانگین ± انحراف استاندارد مدت زمان باقی ماندن در محفظه تاریک قبل از اعمال شوک اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود ندارد. ۴۸ و ۲۴ ساعت پس از القاء شوک بین گروه کنترل با گروه‌های PTZ+NS، PTZ+HES25، PTZ+HES50 و PTZ+HES100 اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P < 0.001$) و بین گروه PTZ+NS و هر سه گروه دریافت‌کننده هسپریدین در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از القاء شوک اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P < 0.05$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.001$). بین گروه PTZ+HES25 با گروه‌های PTZ+HES50 و PTZ+HES100 در ۴۸ و ۲۴ ساعت بعد از شوک اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P < 0.05$).

بررسی رفتار اضطرابی با استفاده از آزمون ماز صلیبی مرتفع

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یکطرفه و تست تعقیبی توکی اختلاف معنی‌داری در مدت زمان بازوی بسته بین گروه کنترل با گروه‌های PTZ+NS و تیمار با هسپریدین نشان داد. این نتایج نشان‌دهنده افزایش میزان اضطراب در حیوانات تیمار شده با PTZ در دوران پرناتال نسبت به گروه کنترل می‌باشد. همچنین، بررسی‌های آماری حاکی از آن است که علی‌رغم کاهش اندکی که در میزان اضطراب در گروه‌های دریافت‌کننده هسپریدین نسبت به گروه PTZ+NS وجود دارد، با این حال این اختلاف تنها در گروه دریافت‌کننده دوز حداکثر هسپریدین یعنی گروه PTZ+HES100 معنی‌دار است ($P < 0.05$)، نمودار ۶).

نتایج حاصل از میزان دفعات عبور از مرکز در ماز صلیبی مرتفع، در گروه PTZ+NS نسبت به گروه کنترل کاهش قابل‌توجهی داشت ($P < 0.001$) از طرف دیگر، نتایج نشان می‌دهد که تأثیر تجویز هسپریدین در دوران پرناتال سبب کاهش میزان اضطراب و افزایش رفتارهای جستجوگرانه در یک

دوران بارداری، تعادل میان تکثیر و آپوپتوز سلولی در هیپوکامپ جنین از بین می‌رود و این امر باعث بروز آسیب‌های شناختی مرتبط با هیپوکامپ می‌شود (۲۸).

تحقیقات نشان داده است که تشنجات مادری سبب تولید رادیکال‌های آزاد و القاء استرس اکسیداتیو در سیستم عصبی در دوره جنینی و پس از آن می‌گردد (۲۹). استرس اکسیداتیو سهم مهمی در تخریب نورونی 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. همچنین، وجود مقادیر بالای اسیدهای چرب غیراشباع در غشاء نورون‌ها آن‌ها را مستعد واکنش‌های اکسیداسیون و تولید آلدئیدهای سمی می‌نماید (۳۰). تخریب سلول‌های عصبی وابسته به تشنج به طور فزاینده‌ای با رادیکال‌های آزاد مرتبط می‌باشد و موجب آسیب سلولی می‌گردد (۳۱). آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در کاهش علائم تشنج نقش مهمی را ایفاء کنند. به طوری که از عمل رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کنند و احتمال می‌رود بتوان آن‌ها را در پیشگیری و درمان بیماری صرع به کار برد (۳۲). افزایش سطح آنتی‌اکسیدان و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد ناشی از اکسیداسیون پروتئین‌ها بر روی یادگیری و حافظه اثرات مطلوبی دارد و نقش مؤثری در جلوگیری و درمان اختلالات ناشی از آسیب اکسیداتیو خواهد داشت. آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق کاهش دادن استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لپیدی دخیل در بیماری‌زایی^{۱۱} صرع شامل هیپوکامپ، موجب کاهش شدت و احتمال رخداد تشنج می‌گردند (۳۳).

هسپریدین فلاونوئیدی است که به وفور در مرکبات یافت می‌شود. مشخص شده است که این ترکیب دارای خاصیت کاهش‌دهندگی استرس اکسیداتیو در مدل تجربی بیماری آلزایمر القا شده با بتا آمیلوئید می‌باشد (۳۴). موجب کاهش میزان آسیب مغزی در مدل تجربی ایسکمی مغزی می‌گردد و جلوی آسیب نورونی را در مدل تجربی بیماری پارکینسون می‌گیرد (۳۵، ۳۶). در پژوهش حاضر اثرات ضد تشنجی و حمایت‌کننده عصبی هسپریدین بر بهبود اختلالات شناختی - رفتاری ایجاد شده بر نوزادان این حیوانات دیده شد. در گروه‌های دریافت‌کننده هسپریدین، مادران تأخیر بیشتری در بروز تشنج نشان دادند و هر چه دوز هسپریدین بالاتر می‌رود تأخیر در تشنج نیز افزایش می‌یابد. همچنین، شدت تشنج در گروه‌های دریافت‌کننده هسپریدین به‌ویژه گروه PTZ+HES100 نسبت به گروه PTZ+Saline کاهش قابل توجهی را از روز سوم تا پنجم تزریق PTZ نشان داد. این احتمال وجود دارد که کاهش میزان تشنجات

آن‌ها القاء شد، نشان داد که این ماده حافظه فضایی را تخریب می‌کند و قرار گرفتن جنین موش در معرض تشنج مادری ناشی از PTZ، عواقب مضر بر حافظه شناختی و عملکردهای رفتاری آن‌ها می‌گذارد (۳). پنتیلین تترازول، ترکیب شدن هسته یونی کلراید را با گیرنده گابا A مسدود می‌کند که تأثیرات تشنجی بعد از تجویز تکرار شونده یا تک دوز دارد. همچنین، چندین سیستم انتقال‌دهنده عصبی مانند سیستم‌های گاباژیک، گلوتاماترژیک را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۳). گابا و گیرنده آن در کنترل تحریک نورونی و صرع درگیر هستند. نتایج نشان می‌دهد که صرع مادری باعث کاهش بیان گیرنده گابا در مغز جنین شده و به تغییرات درون سلولی در سطح بیان پروتئین کیناز A (PKA)^۸ که در انتقالات سیناپسی نقش دارد، منجر می‌شود (۲۴). روز ۱۴ بارداری برای تزریق PTZ و شروع کیندلینگ، مناسب‌تر است. چون در این مرحله از بارداری ساختار مغز در حال تشکیل است و تشنج مادری تأثیراتی منفی بر نورون‌زایی^۹، مهاجرت نورونی به هیپوکامپ جنین و در نهایت بر حافظه نوزاد دارد (۲). در مطالعه حاضر نیز آسیب جدی در عملکردهای شناختی نظیر حافظه کاری و حافظه اجتنابی غیرفعال در موش‌های صحرایی که از روز ۱۴ جنینی در معرض PTZ قرار داشتند، دیده شد. پورمتبید و همکاران نشان دادند که PTZ باعث اختلال در حافظه فضایی می‌شود. هرچند، آن‌ها در روز ۱۳ بارداری، PTZ را تزریق کردند اما ۱۲ هفته پس از تولد نوزادان با استفاده از تست دستگاه شاتل باکس و ماز آبی موریس کاهش قدرت یادگیری را در این نوزادان نشان دادند (۲۵). در واقع، وقایع تکاملی بعد از تولد نمی‌تواند عوارض جانبی ناشی از دوران قبل از تولد را جبران کند. مطالعه حاضر نشان داد که آسیب در حافظه کاری و کاهش میزان یادگیری در موش‌های صحرایی که در دوران جنینی در معرض تشنجات مادری بوده‌اند، ایجاد شده است. در واقع آزمون‌های رفتاری نظیر آزمون شاتل باکس جهت بررسی حافظه اجتنابی غیرفعال، آزمون ماز Y برای ارزیابی حافظه کاری و آزمون ماز صلیبی مرتفع^{۱۰} برای بررسی رفتارهای اضطرابی و جستجوگری عملکرد ضعیف گروه PTZ+NS را نسبت به گروه کنترل نشان داد و مشخص نمود که نشانه‌های آسیب‌شناختی ناشی از کیندلینگ در دوران بارداری بر مغز نوزادان است. در افراد مصروع تحلیل عملکردی مغز جلویی و هیپوکامپ وجود دارد و حتی ممکن است این امر باعث کاهش مهارت‌های حرکتی و شناختی شود (۲۶). هرچند، مرگ نورونی ناشی از تشنج در هیپوکامپ یکی از دلایل ضعف شناختی و آسیب به یادگیری در موش‌های صحرایی است (۲۷) و به نظر می‌رسد که متعاقب تشنج در

⁸ Protein kinase A

⁹ Neurogenesis

¹⁰ Elevated plus maze

¹¹ Pathogenicity

داد که تجویز پرناتال هسپریدین می‌تواند در دوزهای بالا شدت علائم شبه اضطرابی را در نوزادان موش‌های صحرایی یک ماهه متعاقب تشنج پرناتال کاهش دهد. همچنین، رفتارهای جستجوگری و کاهش ترس نیز در گروه PTZ+HES100 در مقایسه با گروه PTZ+NS دیده شد. هرچند، با توجه به شواهد مربوط به تغییر بیان گیرنده گابا در مغز متعاقب تشنج، گزارش‌های ضد و نقیضی درباره اضطراب متعاقب تشنج وجود دارد (۴۱).

در مجموع یافته‌های این پژوهش نشان داد که درمان با هسپریدین باعث بهبود حافظه کاری، حافظه اجتنابی و اضطراب در نوزادان مدل تشنج پرناتال می‌شود. هرچند، نیاز به ارزیابی‌های نوروهیستوپاتولوژیک مغز جنین و نیز مغز نوزادان ضروری به نظر می‌رسد، مطالعه ملکولی ژن‌های دخیل در فرایند حافظه و یادگیری می‌تواند به شناخت بیشتری از مکانیسم عملکرد هسپریدین در بهبود اختلالات شناختی-رفتاری متعاقب تشنجات پرناتال بیانجامد. از طرف دیگر، با توجه به اینکه در مقایسه با سایر داروهای حفاظت‌کننده نورونی، آنتی‌اکسیدان‌ها دارای عوارض جانبی بسیار کمتری می‌باشند، در صورت انجام کارآزمایی‌های بالینی جهت تأیید این اثرات پیشنهاد می‌شود، هسپریدین به‌عنوان مکمل برای کاهش علائم اختلال حافظه در مادران مصروع مصرف شود.

سبب جلوگیری از آسیب‌های وارده به مغز جنین در دوره پرناتال گردد. علی‌رغم کاهش معنی‌دار حافظه کاری در گروه PTZ+Saline، تجویز پرناتال هسپریدین در گروه‌های دریافت‌کننده دوز بالا توانسته است، سبب بهبود حافظه کاری گردد. در پژوهش‌های قبلی مشخص شده است که اختلال در حافظه کاری با سرعت ارتباط مستقیم دارد (۳۷). از سوی دیگر، نشان داده شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در نقاطی مثل هیپوکامپ اثر مثبتی در فرایند یادگیری و حافظه داشته باشد (۳۸). نقص در سیستم کولینرژیک نیز از عامل پاتوژنیک و دلیل اختلالات شناختی در بیماری صرع است. هسپریدین موجود در مرکبات می‌تواند با کاهش آنزیم استیل کولین استراز مدت زمان ماندگاری و اثر استیل کولین را در شکاف سیناپسی افزایش دهد (۳۹). 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 (۳۹). فعالیت آنتی‌اکسیدانی هسپریدین به‌عنوان تعدیل‌کننده عصبی با مهار فعالیت گیرنده NMDA سبب کاهش اضطراب می‌گردد (۴۰). همچنین، این آنتی‌اکسیدان با تعدیل سطح سروتونین مغزی، اثرات ضد افسردگی ایجاد می‌کند (۴۰). مطالعه حاضر نشان

منابع

- Walker MC. Pathophysiology of status epilepticus. *Neurosci Lett.* 2018; 667: 84-91.
- Naseer MI, Lee HY, Ullah N, Ullah I, Park MS, Kim SH, et al. Ethanol and PTZ effects on siRNA-mediated GABAB1 receptor: down regulation of intracellular signaling pathway in prenatal rat cortical and hippocampal neurons. *Synapse.* 2010; 64(3): 181-90.
- Naseer MI, Shupeng L, Kim MO. Maternal epileptic seizure induced by pentylentetrazol: apoptotic neurodegeneration and decreased GABAB1 receptor expression in prenatal rat brain. *Mol Brain.* 2009; 2: 20.
- Corvino V, Marchese E, Michetti F, Gelo MC. Neuroprotective strategies in hippocampal neurodegeneration induced by the neurotoxicant trimethyltin. *Neurochem Res.* 2013; 38(2): 240-53.
- Fujimura K, Mitsuhashi T, Takahashi T. Adverse effects of prenatal and early postnatal exposure to anyiepileptic drugs: Validation from clinical and basic researches. *Brain Dev.* 2017; 39(8): 635-43.
- Davidson L, Derry C. Seizure classification key to epilepsy management. *Practitioner.* 2015; 259(1785): 13-9.
- Jia P, Ewers JM, Zhao Z. Prioritization of epilepsy associated candidate genes by convergent analysis. *PLoS One.* 2011; 6(2): 17162. doi: 10.1371/journal.pone.0017162.
- Yerby MS. Special considerations for women with epilepsy. *Pharmacotherapy.* 2000; 20(8): 159S-170S.
- Singh KP, Verma N. Teratogenic potential of third-generation antiepileptic drugs: Current status and research needs. *Pharmacol Rep.* 2019; 71(3): 491-502.
- Holmes GL, Harden C, Liporace J, Gordon J. Postnatal concerns in children born to women with epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2007; 11(3): 270-6.
- Bromley RL, Baker GA. Fetal antiepileptic drug exposure and cognitive outcomes. *Seizure.* 2017; 44: 225-31.
- Borthen I, Gilhus NE. Pregnancy complications in patients with epilepsy. *Curr Opin Obs tet Gynecol.* 2012; 24(2): 78-83.

13. De Almeida AA, SG Da Silva, GM Lopim, DV Campos, J Fernandes. Resistance exercise reduces seizure occurrence, attenuates memory deficits and restores BDNF signaling in rats with chronic epilepsy. *Neurochem Res.* 2017; 42(4): 1230-9.
14. Ahmadi A, Hossinimehr SJ, Naghshvar F, Hajir E, Ghahremani M. Chermoprotective effects of hesperidin against genotoxicity induced by cyclophosphamide in mice bone marrow cells. *Arch Pharm Res.* 2008; 31(6): 794-7.
15. Garg A, Garg S, Zaneveld L, Singla A. Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytother Res.* 2001; 15(8): 655-69.
16. Cho J. Antioxidant and neuroprotective effects of hesperidin and its aglycone hesperetin. *Arch Pharm Res.* 2006; 29(8): 699-706.
17. Parhiz H, Roohbakhsh A, Soltani F, Rezaee R, Iranshahi M. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models. *Phytother Res.* 2015; 29(3): 323-31.
18. Samokhina E, Samokhin A. Neuropathological profile of the pentylentetrazol (PTZ) kindling model. *Int J Neurosci.* 2018; 128(11): 1086-96.
19. Edalatmanesh MA, Amooei K. The lithium effect on learning and memory deficits and hippocampal level of BDNF in prenatal seizure kindled rats. *J Fasa Univ Med Sci.* 2019; 8(4): 1088-96.
20. Haggag BS, Hasanin AM, Raafat MH, Abdel Kawy HS. Lamotrigine decreased hippocampal damage and improved vascular risk markers in a rat model of pentylentetrazole induced kindling seizure. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2014; 18(3): 269-78.
21. Bagha N, Edalatmanesh MA. Effectiveness of erythropoietin on working memory, passive avoidance learning and anxiety- like behaviors in prenatal food restriction model. *Rep Health Care.* 2018; 4(1): 36-43.
22. Moghadas M, Edalatmanesh MA, Robati R. Histopathological analysis from gallic acid administration on hippocampal cell density, depression, and anxiety related behaviors in a trimethyl tin intoxication model. *Cell J.* 2016; 17(4): 659-67.
23. Naseer MI, Lee HY, Ullah N, Ullah I, Park MS, Kim SH, et al. Ethanol and PTZ effects on siRNA-mediated GABAB1 receptor: down regulation of intracellular signaling pathway in prenatal rat cortical and hippocampal neurons. *Synapse.* 2010; 64(3): 181-90.
24. Zhen JL, Chang YN, Qu ZZ, Fu T, Liu JQ, Wang WP. Luteolin rescues pentylentetrazole-induced cognitive impairment in epileptic rats by reducing oxidative stress and activating PKA/CREB/BDNF signaling. *Epilepsy Behav.* 2016; 57(Pt A): 177-84.
25. Pourmotabbed A, Nedaei SE, Cheraghi M, Moradian S, Touhidi A, Aeinfar M, et al. Effect of prenatal pentylentetrazol-induced kindling on learning and memory of male offspring. *Neuroscience.* 2011; 172: 205-11
26. Huberfeld G, Blauwblomme T, Miles R. Hippocampus and epilepsy: Findings from human tissues. *Rev Neurol (Paris).* 2015; 171(3): 236-51.
27. Postnikova TY, Zubareva OE, Kovalenko AA, Kim KK, Magazanik LG, Zaitsev AV. Status epilepticus impairs synaptic plasticity in rat hippocampus and is followed by changes in expression of NMDA receptors. *Biochemistry (Mosc).* 2017; 82(3): 282-90.
28. Xie T, Wang WP, Jia LJ, Mao ZF, Qu ZZ, Luan SQ, et al. Environmental enrichment restores cognitive deficits induced by prenatal maternal seizure. *Brain Res.* 2012; 1470: 80-8.
29. 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: 63-9.
30. Salim S. Oxidative stress and the central nervous system. *J Pharmacol Exp Ther.* 2017; 360(1): 201-5.
31. Puttachary S, Sharma S, Stark S, Thippeswamy T. Seizure-induced oxidative stress in temporal lobe epilepsy. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 745613. doi: 10.1155/2015/745613.
32. Pearson-Smith JN, Patel M. Metabolic dysfunction and oxidative stress in Epilepsy. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(11): 2365. doi: 10.3390/ijms18112365.
33. Geronzi U, Lotti F, Grosso S. Oxidative stress in epilepsy. *Expert Rev Neurother.* 2018; 18(5): 427-34.
34. Hajjalyani M, Hosein Farzaei M, Echeverría J, Nabavi SM, Uriarte E, Sobarzo-Sánchez E. Hesperidin as a neuroprotective agent: a review of animal and clinical evidence. *Molecules.* 2019; 24(3): 648.
35. Oztanir MN, Ciftci O, Cetin A, Aladag MA. Hesperidin attenuates oxidative and neuronal damage caused by global cerebral ischemia/reperfusion in a C57BL/J6

mouse model. *Neurol Sci.* 2014; 35(9): 1393-9.

36. Poetini MR, Araujo SM, Trindade de Paula M, Bortolotto VC, Meichtry LB, Polet de Almeida F, et al. Hesperidin attenuates iron-induced oxidative damage and dopamine depletion in *Drosophila melanogaster* model of Parkinson's disease. *Chem Biol Interact.* 2018; 279: 177-86.

37. van Iterson L, de Jong PF. Development of verbal short-term memory and working memory in children with epilepsy: Developmental delay and impact of time-related variables. A cross-sectional study. *Epilepsy Behav.* 2018; 78: 166-74.

38. Gomes BAQ, Silva JPB, Romeiro CFR, Dos Santos SM, Rodrigues CA, Gonçalves PR, et al. Neuroprotective mechanisms of resveratrol in Alzheimer's disease: role

of SIRT1. *Oxid Med Cell Longev.* 2018; 2018: doi: 10.1155/2018/8152373.

39. Hemanth Kumar B, Dinesh Kumar B, Diwan PV. Hesperidin, a citrus flavonoid, protects against t1-methionine-induced hyperhomocysteinemia by abrogation of oxidative stress, endothelial dysfunction and neurotoxicity in wistar rats. *Pharm Biol.* 2017; 55(1): 146-55.

40. Hritcu L, Ionita R, Postu PA, Gupta GK, Turkez H, Lima TC, et al. Antidepressant flavonoids and their relationship with oxidative stress. *oxid med cell longev.* 2017; 2017: 5762172.

41. Jones C, Reilly C. Parental anxiety in childhood epilepsy: A systematic review. *Epilepsia.* 2016; 57(4): 529-37.