

The effect of Ferulic acid on motor-cognitive learning in Trimethyltin-induced hyperactivity model

Habiboolah Khodabandeh¹, Mohammad Amin Edalatmanesh²

¹ PhD Candidate in Cell and Developmental Biology, Department of Biology, College of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

² Associate Professor of Physiology, Department of Biology, College of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Abstract

Background: Trimethyltin (TMT) is an organotin with selectively damage in the cerebral cortex and hippocampus which leads hyperactivity in prenatal exposure. The aim of this study was the evaluation of Ferulic acid (FER) effect on amelioration of motor and cognitive deficits in prenatal TMT-intoxication rat model.

Materials and methods: In this experimental study, 30 Wistar pregnant rats were randomly divided into 5 groups, including control group, TMT+Saline group and TMT+FER25, TMT+FER50 and TMT+FER100 groups. TMT (9 mg/kg) were intraperitoneally injected to the pregnant rats on embryonic day (ED) 14. Ferulic acid groups were treated by 25, 50 and 100 mg/kg doses of Ferulic acid during ED12 to ED18. Open field test for evaluation of anxiety and locomotor activity, beam walking and grid walking test for assessment of motor learning and Y-maze for evaluation of working memory were used on postnatal day (PND) 30. The data were analyzed by ANOVA and Tukey post hoc.

Results: Increased rates of anxiety- like behaviors, decrease of motor learning and working memory were shown in TMT+Saline group compared to the control. Although, Ferulic acid treated groups were shown a significant amelioration in correct alteration behavior and motor learning with reduction of anxiety- like behaviors ($p < 0.05$).

Conclusion: TMT prenatal exposure impairs learning and attention in rats and Ferulic acid may reduce cognitive-behavioral deficits.

Keywords: Attention deficit disorder with hyperactivity, Trimethyltin, Ferulic acid, Motor learning, Rat.

Cited as: Khodabandeh H, Edalatmanesh MA. The effect of Ferulic acid on motor-cognitive learning in Trimethyltin- induced hyperactivity model. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2021; 31(3): 307-318.

Correspondence to: Mohammad Amin Edalatmanesh

Tel: +98 36410041-071

E-mail: amin.edalatmanesh@gmail.com

ORCID ID: 0000-0002-7936-1145

Received: 16 Feb 2021; **Accepted:** 20 Apr 2021

اثر فرولیک اسید بر یادگیری حرکتی - شناختی در مدل بیش فعالی ناشی از تری‌متیل‌تین

حبیب‌الله خدابنده^۱، محمد امین عدالت‌منش^۲

^۱ دانشجوی دکتری زیست‌شناسی سلولی - تکوینی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
^۲ دانشیار فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز

چکیده

سابقه و هدف: تری‌متیل‌تین (Trimethyltin; TMT) اورگانوتینین است که تجویز پرنیناتال آن سبب تخریب انتخابی قشر مغز، هیپوکامپ و بروز بیش‌فعالی می‌شود. هدف این پژوهش، ارزیابی اثر فرولیک اسید بر بهبود اختلال در یادگیری حرکتی - شناختی در موش‌های صحرایی متعاقب مسمومیت پرنیناتال با TMT بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۳۰ سر موش صحرایی باردار نژاد ویستار به صورت تصادفی در ۵ گروه تقسیم شدند. گروه‌های کنترل، دریافت‌کننده نرمال سالین (TMT+Saline) و دریافت‌کننده فرولیک اسید (TMT+FER25، TMT+FER50، TMT+FER100) و TMT به صورت درون صفاقی (۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به موشهای صحرایی باردار در روز ۱۴ بارداری تزریق شد. فرولیک اسید در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم از روز ۱۲ تا ۱۸ بارداری تجویز شد. آزمون محفظه باز برای ارزیابی حرکات لوکوموتور و رفتار اضطرابی، آزمون راه رفتن شعاعی و شبکه‌ای جهت سنجش یادگیری حرکتی و آزمون ماز Y برای ارزیابی حافظه کاری در نوزادان انجام شد. داده‌ها با آزمون ANOVA و تعقیبی توکی تحلیل شدند.

یافته‌ها: افزایش رفتارهای شبه اضطرابی، کاهش یادگیری حرکتی و حافظه کاری در گروه TMT+Saline نسبت به گروه کنترل دیده شد. هرچند، تجویز فرولیک اسید سبب بهبود قابل توجهی در تناوب صحیح حرکتی، یادگیری حرکتی و کاهش اضطراب شد ($p < 0.05$).
نتیجه‌گیری: مسمومیت پرنیناتال با TMT، سبب اختلال در یادگیری و توجه در موش‌های صحرایی می‌شود و فرولیک اسید احتمالاً نواقص شناختی-رفتاری ناشی از آن را کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: اختلال نقص توجه با بیش‌فعالی، تری‌متیل‌تین، فرولیک اسید، یادگیری حرکتی، موش صحرایی.

مقدمه

تغییرات رفتاری مثل پرخاشگری، گم‌گشتگی شخصیت و رفتارهای غیر منطقی است. باتوجه به گوناگونی مکانیزم نورو-توکسیک، مکانیسم عملکرد TMT هنوز ناشناخته باقی مانده است (۱). تری‌متیل‌تین، در پلیمرهای پلاستیکی و محصولات سیلیکونی مثل لوازم آشپزخانه، مواد بسته بندی غذا و قارچ کش‌ها وجود دارد. همچنین، ممکن است سبب آلودگی آب‌های آشامیدنی و محیط آبی شده و گونه‌های آبی را مسموم می‌سازد (۲). مسمومیت با TMT به دلیل وجود این ترکیب در محصولات پلاستیکی و کاربرد گسترده انسان از ظروف یک بار مصرف

تری‌متیل‌تین (TMT) یک ارگانوتین سمی است که چهار ارگان اصلی شامل مغز، کبد، سیستم ایمنی و پوست را تحت تأثیر قرار می‌دهد. نتیجه اصلی این مسمومیت شامل سوزش چشم و پوست، اسهال، سردرد، تخریب حافظه،

آدرس نویسنده مسئول: شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی،

محمدامین عدالت‌منش (email: amin.edalatmanesh@gmail.com)

ORCID ID: 0000-0002-7936-1145

تاریخ دریافت مقاله: ۹۹/۱۱/۲۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۱/۳۱

پلاستیکی به مسئله‌ای جهانی تبدیل شده است. با این حال، بیشترین مسمومیت در مواردی است که شغل افراد در صنایع پلاستیک سازی یا سایر مشاغلی است که نیازمند گرم کردن پلاستیک است (۳).

مطالعات نشان داده است که تجویز پیش از تولد TMT، سبب دژنراسیون سیستم عصبی مرکزی به ویژه تخریب نورون‌های هیپوکامپ شده و در پی این تجویز حیوانات آزمایشگاهی دچار اختلالات شناختی، بیش فعالی و پرخاشگری می‌شوند، به گونه‌ای که آن را به عنوان مدلی برای القاء بیش فعالی همراه با نقص توجه (ADHD) در نظر گرفته‌اند (۴). از طرفی، سلول‌های هرمی هیپوکامپ موش وقتی که در معرض TMT قرار می‌گیرند، دچار آپوپتوز می‌شوند. مرگ نورونی انتخابی در سیستم لیمبیک و به ویژه هیپوکامپ متعاقب مسمومیت با TMT منجر به بروز آسیب‌های شناختی و کاهش روند یادگیری در موش‌های صحرایی می‌شود (۵).

ADHD، یک اختلال رایج، طولانی مدت و تا حدودی قابل درمان در دوران کودکی است. کودکان مبتلا به ADHD در چندین دامنه عملکردی مانند حل مسائل، برنامه ریزی، تطبیق دادن، تمرکز، ممانعت از پاسخ شدید به تحریکات و حافظه عملکردی درای مشکل هستند و از اختلالات حرکتی نظیر اختلال در هماهنگی محرکات حسی مانند دست خط ضعیف، شلخته واری و تأخیر قابل توجه در شروع حرکت و حرکات تکراری رنج می‌برند (۶). دو ماه بعد از تولد، موش‌هایی که در دوران جنینی در معرض TMT قرار داشته‌اند، اختلالات شناختی را نشان داده‌اند. همچنین، تزریق پیش از تولد این ارگانوتین به موش‌های صحرایی، باعث تسریع شروع رفلکس‌های نوزادی می‌شود که در کودکان دچار ADHD نیز دیده شده است (۴). حیوانات آزمایشگاهی که پیش از تولد در معرض TMT بوده‌اند، آسیب نورونی هیپوکامپ و اختلال در سیستم‌های نوروترانسمیتری مانند کولینرژیک، گاباژیک و گلوتاماترژیک را نشان داده‌اند. از طرفی فعال شدن کاسپاز ۳ که در پی تزریق TMT مشاهده شده است، منجر به همکاری دو فرایند زوال مغز و آپوپتوز در مغز حیواناتی که پیش از تولد در معرض TMT بوده‌اند، می‌شود (۷).

با توجه به نقش برجسته مخچه در پاتولوژی ADHD، کاهش حجم مخچه و آسیب نورون‌های پورکینز (۸)، بروز اختلالات حرکتی و اختلال در یادگیری حرکتی در مدل مسمومیت تری‌متیل‌تین می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. در واقع، محققین به این نتیجه رسیده‌اند که قرار گرفتن در

معرض TMT یکی از دلایل ابتلا به سندرم خاصی به نام سندرم مخچه‌ای- لیمبیک است (۹). قرار گرفتن سلول‌های گرانولی مخچه در معرض TMT باعث مرگ اولیه آنها شده و در صورت تجمع بیشتر TMT، باعث ایجاد جریان لاکتات دهیدروژناز سلولی و نکروز می‌شود (۱۰). نورون‌هایی که حاوی پروتئین استاتین در میتوکندری خود هستند، حساسیت بیشتری به TMT دارند (۱۱).

آسیب ناشی از TMT در سلول‌های حساس با فرایندهای نظیر استرس اکسیداتیو، افزایش کلسیم درون سلولی و آسیب میتوکندریایی همراه است. استرس اکسیداتیو با تولید اسیژن و نیتروژن واکنشی و لیپو پراکسیداسیون مشخص می‌شود. در حالی که آسیب میتوکندریایی احتمالاً نتیجه برهم کنش TMT با پروتئین استاتین است که منجر به آزاد سازی سیتوکروم C و فعالیت کاسپازها می‌شود (۱۲). از آنجایی که دارو درمانی در DAHD با مشکل عوارض ناشی از داروها و عدم کارایی لازم مواجه است و از طرفی علت این اختلال، آسیب های مغزی جنین است، لذا توجه به تغذیه مادر و مصرف آنتی اکسیدان‌ها شاید بتواند راهگشای درمانی در ADHD باشد (۱۳).

فنول‌های گیاهی، آنتی اکسیدانت‌های قدرتمند و بخش اصلی از رژیم غذایی انسان هستند. به علاوه، از آنها در صنعت غذا به عنوان افزودنی مثل رنگ، چاشنی و نگهدارنده استفاده می‌شود. اغلب فنول‌ها در رژیم غذایی فلاونوئیدها و سینامیک اسید هستند و غذاهای گیاهی تنها منبع رژیم غذایی فلاونوئیدها هستند. بر اساس تخمین‌های موجود، دریافت آنتی اکسیدان‌ها از طریق فنول‌های رژیم غذایی قابل مقایسه با ویتامین E، C و کاروتنوئیدها است. بنابراین، فنول‌های رژیم غذایی به عنوان آنتی اکسیدان در پیشگیری از ابتلاء به بیماری‌ها اهمیت دارند (۱۴). مطالعات گذشته نقش آنتی اکسیدانی فرولیک اسید را در بهبود اختلالات شناختی از طریق افزایش فعالیت کولین استیل ترانسفراز در قشر مغز و هیپوکامپ موش‌های صحرایی نشان داده است (۱۵). همچنین، دیده شده است که فرولیک اسید، سیستم Nrf2/هم اکسیژناز-۱ را تنظیم می‌کند و از آسیب عصبی ناشی از TMT در سلول‌های نوروبلاستوما‌ی انسانی ممانعت به عمل می‌آورد (۱۶).

هدف این پژوهش، بررسی رفتارهای مشابه ADHD در نوزادان موش صحرایی است که در دوران جنینی در معرض تری‌متیل‌تین قرار می‌گیرند. بدین منظور ضمن بررسی‌های تراژوژنیک رفتاری این ترکیب، بر اعتبار بخشی به مدل

ADHD تری متیل تین پرداخته می‌شود و اثر فرولیک اسید در کنترل رفتارهای اضطرابی، اختلالات حرکتی و شناختی در این مدل مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روشها

حیوانات و گروه‌بندی

این مطالعه تجربی بر روی نوزادان نر حاصل از جفت‌گیری ۳۰ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی 180 ± 10 گرم و سن تقریبی ۸ هفته و ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی 220 ± 10 گرم صورت گرفت. حیوانات از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه و قبل از انجام آزمایشات به منظور سازگاری با شرایط جدید، به مدت ۸ روز در محیط جدید نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش، همه حیوانات از غذای استاندارد آزمایشگاهی مخصوص موش‌های صحرایی (محصول شرکت خوراک دام و طیور فارس، ایران) و آب به میزان دلخواه حیوانات برخوردار بودند. کلیه مراحل کار، تحت شرایط استاندارد دما (25 ± 2 درجه سانتی‌گراد) و رطوبت نسبی (50 ± 10 درصد) و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته (۶ صبح تا ۶ عصر) انجام گرفت. تعداد ۷۵ نوزاد موش صحرایی در ۳۰ روزگی و به صورت تصادفی در گروه‌های مورد مطالعه ($n=15$) در هر گروه) استفاده شدند. رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی طبق قوانین بین‌المللی و ضوابط کمیته اخلاقی حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی شیراز (کد اخلاق: IR.IAUSHIRAZ.1397.27) صورت گرفت.

برای بالا بردن درصد موفقیت در جفت‌گیری، از موش‌های صحرایی ماده قبل از جفت‌گیری اسمیر واژینال تهیه شد و حیواناتی که در سیکل استروس قرار داشتند، با حیوان نر در ساعت ۶ عصر هم قفس شدند. پس از هم قفس شدن و جهت اطمینان از جفت‌گیری، صبح روز بعد، حیوانات جهت مشاهده پلاک واژنی و یا وجود سلول‌های اسپرماتوزوآ در اسمیر واژنی بررسی و آن روز به عنوان روز صفر بارداری تعیین شد.

پس از توزین اولیه، موش‌های صحرایی باردار به طور تصادفی در ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه TMT+Saline (تزریق صفای تری‌متیل‌تین و گاوآژ نرمال سالین به عنوان حلال فرولیک اسید)، TMT+FER25 (تزریق تری‌متیل‌تین و گاوآژ دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن فرولیک اسید)، TMT+FER50 (تزریق تری‌متیل‌تین و گاوآژ دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فرولیک اسید) و TMT+FER100 (تزریق تری-

متیل‌تین و گاوآژ دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فرولیک اسید). تری‌متیل‌تین در روز ۱۴ بارداری و به صورت تک دوز به تمامی مادران به جز گروه کنترل تزریق شد (۴) و گاوآژ فرولیک اسید از روز ۱۲ تا ۱۸ بارداری انجام شد. سپس، مادران به صورت طبیعی زایمان کردند و فرزندان حاصل پس از شمارش، توزین و ارزیابی‌های مورفولوژیک تا ۲۴ روزگی با مادرانشان نگهداری شدند. سپس، از مادر جدا شده و در پایان یک ماهگی جهت مطالعات رفتاری مورد بررسی قرار گرفتند. از بین تمامی نوزادان حاصل از ۶ مادر در هر گروه، تعداد ۱۵ سر نوزاد نر (۲-۳ نوزاد نر از هر مادر در هر گروه) به طور تصادفی انتخاب شدند (در مجموع ۷۵ نوزاد ۳۰ روزه) و جهت مطالعات رفتاری مورد استفاده قرار گرفتند. مرگ و میر مادران در پی مسمومیت با TMT، سقط جنین، مرده‌زایی، زایمان زودرس، کاهش وزن و اختلالات فیزیکی نوزادان که از موارد محدودیت مطالعه حاضر هستند، معیار خروج حیوانات در نظر گرفته شدند.

آزمون‌های رفتاری

آزمون محفظه باز (Open Field)

این آزمون، به منظور سنجش و مقایسه میزان رفتارهای اکتشافی، فعالیت حرکتی و اضطراب در موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف طی یک ماهگی انجام شد. این رفتارها، با استفاده از یک دستگاه محفظه باز مورد ارزیابی قرار گرفت که مجهز به دوربین فیلم‌برداری متصل به کامپیوتر (سیستم مانیتورینگ رفتار حیوانات) می‌باشد. تعداد دفعات عبور از مربع‌های کناری و مربع‌های مرکزی، به ترتیب به عنوان شاخص‌هایی برای ارزیابی فعالیت لوکوموتور و رفتارهای اکتشافی، تعداد دفعات دفع حیوان (شاخص سنجش اضطراب حیوان) و مدت زمان بی‌حرکتی در موش‌های صحرایی هر گروه، در طول دوره زمانی ۱۰ دقیقه‌ای، مورد بررسی قرار گرفتند. مدت زمان کل آزمایش در این بررسی، ۱۰ دقیقه (دو بازه زمانی ۵ دقیقه‌ای برای هر حیوان) می‌باشد (۱۷).

آزمون ماز Y

برای سنجش حافظه کاری و ثبت رفتارهای تناوبی از آزمون ماز Y در ۳۰ روزگی استفاده شد. این ماز از سه بازو با شرایط یکسان شبیه به حرف Y تشکیل شده است. هر بازو دارای ابعاد $15 \times 30 \times 40$ سانتی‌متر می‌باشد. بازوها از طریق یک محوطه مرکزی به هم متصل می‌شوند. موش‌های صحرایی به طور معمول ترجیح می‌دهند به بررسی بازوی جدید بپردازند و تمایلی برای بازگشت به بازویی که قبلاً بازدید کرده‌اند ندارند، مگر آن را فراموش کرده باشند. ابتدا حیوان به آرامی و بدون القاء استرس در یکی از سه بازو قرار داده شد و حرکات آن به مدت ۵ دقیقه

یافته‌ها

ارزیابی میزان مرگ و میر نوزادان

پس از به دنیا آمدن نوزادان، تعداد نوزادان زنده و مرده در هر گروه شمارش شد. نوزادان مرده شامل آن دسته از نوزادانی هستند که مرده به دنیا آمده‌اند یا پس از تولد و تا پایان دوره نوزادی (۱۴ روزگی) مرده‌اند. نتایج حاصل در جدول ۱ آمده است. مشاهدات حاکی از آن است که میزان مرگ و میر نوزادان در گروه TMT+Saline و نیز گروه TMT+FER25 بیشتر از دیگر گروه‌های مورد مطالعه بود. در گروه کنترل هیچ مرگ و میری مشاهده نشد.

جدول ۱. درصد مرگ و میر نوزادان در گروه‌های مختلف

گروه	تعداد	تعداد مادران تلف شده در هر گروه	تعداد کل نوزادان مرده	درصد
کنترل	۶	-	۵۴	۰
TMT+Saline	۶	۱	۳۸	۲۶/۳۱
TMT+FER25	۶	۱	۴۱	۱۷/۰۷
TMT+FER50	۶	۰	۵۲	۹/۶۱
TMT+FER100	۶	۰	۴۶	۱۰/۸۶

ارزیابی فعالیت لوکوموتور، رفتار اکتشافی و اضطراب

نتایج حاصل از ارزیابی میزان فعالیت حرکتی (عبور از مربع‌های مرکزی) رفتارهای اکتشافی و شبه اضطرابی (عبور از مربع‌های کناری و مدت زمان بی‌حرکتی) در آزمون Open Field به تفکیک مورد بررسی قرار گرفت.

عبور از مربع‌های کناری

نتایج حاصل از آزمون ANOVA نشان داد که تعداد دفعات عبور از مربع‌های کناری در گروه TMT+Saline نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری دارد ($p < 0.01$). هرچند، بین گروه کنترل با گروه‌های TMT+FER25 و TMT+FER50 نیز اختلاف معنی‌داری (به ترتیب $p < 0.01$ و $p < 0.05$) دیده می‌شود. با این حال، نتایج نشان از کاهش میزان فعالیت حرکتی و هایپراکتیویته در گروه‌های TMT+FER50 و TMT+FER100 نسبت به گروه TMT+Saline دارد (به ترتیب $p < 0.05$ و $p < 0.01$). از طرفی، بین گروه TMT+FER100 با گروه TMT+FER25 اختلاف معنی‌دار دیده شد ($p < 0.05$) (نمودار ۱).

مشاهده شد. تعداد دفعاتی که حیوان وارد هر کدام از بازوها شد، ثبت گردید. ورود هر حیوان به داخل یک بازو زمانی است که پاهای عقبی حیوان به طور کامل در داخل بازو قرار گیرد. برای تعیین میزان حافظه کاری، درصد رفتارهای تناوبی از حاصل جمع ورودهای موفق تقسیم بر ورودی‌های کل بازو منهای ۲ ضرب در صد محاسبه گردید. منظور از ورودهای موفق، ورودهای متناوب و پشت سر هم و سریالی در هر سه بازو است (۱۸).

آزمون راه رفتن شعاعی (Beam walking)

آزمون راه رفتن شعاعی به منظور بررسی و مقایسه هماهنگی فعالیت حرکتی، در موش‌های صحرایی نر طی ۳۰ روزگی انجام گرفت. ابزار مورد نیاز برای این آزمون عبارت است از یک میله چوبی به قطر سه سانتی متر و طول یک متر که ۳۰ سانتی متر بالاتر از سطح زمین قرار دارد و در یک انتها به یک سکوی نجات ۴۰ سانتی متر مربع ختم می‌شود. حیوانات قبل از انجام آزمایش، چندین بار بر روی این میله چوبی قرار داده می‌شوند و به آن‌ها آموزش داده می‌شود که به سمت سکو حرکت کنند. در روز آزمون، هر حیوان سه بار و به فاصله یک ساعت بر روی این میله چوبی قرار گرفتند. مدت زمان رسیدن از ابتدا به انتهای این میله و نیز سرعت حرکت آن‌ها ثبت شد (۱۹).

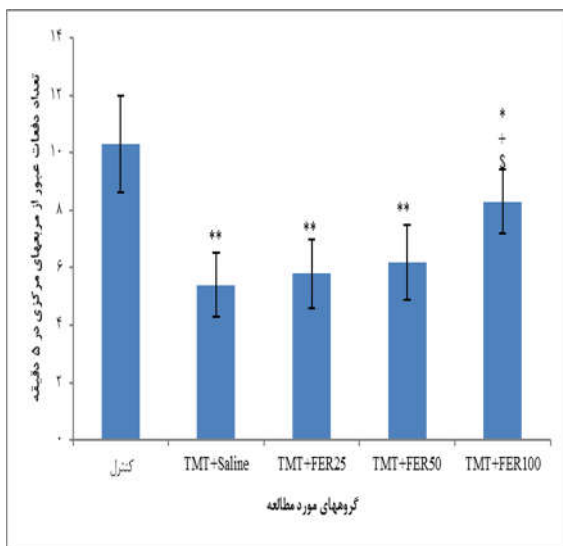
آزمون راه رفتن شبکه‌ای (Grid walking)

جهت ارزیابی و مقایسه هماهنگ بودن حرکت دست و پاها از این آزمون استفاده شد. در این آزمون از یک توری استیل ضد زنگ با طول ۴۰ و عرض ۲۰ سانتی متر استفاده شد که از مربع‌هایی به ضلع ۴ سانتی متر تشکیل شده و دارای پایه‌هایی به ارتفاع ۳۰ سانتی متر است جهت انجام آزمایش حیوان را بر روی آن قرار داده و طی مدت زمان یک دقیقه توسط دوربینی از زیر که به کل وسیله اشراف دارد تصویربرداری می‌شود. فاکتورهایی که در این آزمون مد نظر گرفته می‌شود، عبارتند از تعداد قدم‌های برداشته شده توسط هر دست و پا و تعداد خطاهای صورت گرفته توسط هر دست و پا. جهت ارزیابی درصد خطا، تعداد خطاهای صورت گرفته تقسیم بر تعداد کل قدم‌ها شده و در ۱۰۰ ضرب می‌شود. این آزمون در یک ماهگی با سه بار تکرار برای هر حیوان انجام گرفت (۲۰).

تحلیل آماری

تحلیل آماری بین گروه‌های مختلف با نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ انجام شد. برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. همچنین، به منظور تعیین اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مورد نظر، آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی صورت گرفت. از نظر آماری مقادیر $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

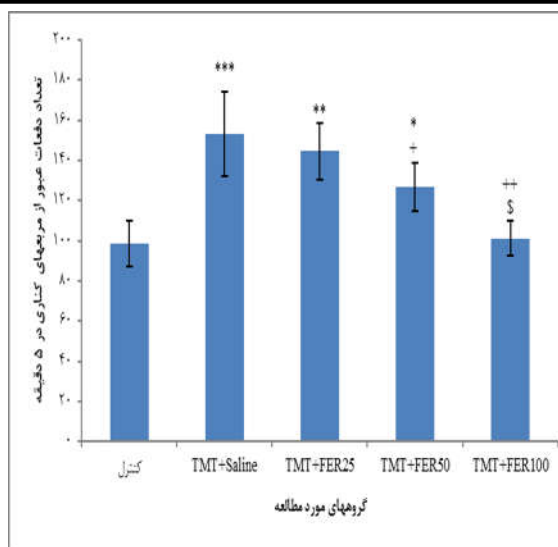
نشانه‌های اضطراب در گروه‌های دریافت کننده فرولیک اسید نسبت به گروه TMT+Saline، این اختلاف در هیچ یک از گروه‌های تیمار شده معنی‌دار نیست و تیمار با فرولیک اسید نتوانست در مدت زمان بی‌حرکتی تفاوت معنی‌داری در گروه‌های مورد مطالعه ایجاد کند (نمودار ۳).



نمودار ۲. مقایسه میانگین (± انحراف معیار) تعداد دفعات عبور از مربعات مرکزی در آزمون محفظه باز در گروه‌های مختلف. نتایج نشان داد که بین گروه کنترل با تمامی گروه‌های مورد اختلاف معنی دار است ($p < 0.01$ و $p < 0.05$). همچنین، بین گروه TMT+Saline با گروه TMT+FER100 اختلاف معنی داری دیده شد ($p < 0.05$). بین گروه TMT+FER25 با گروه TMT+FER100 اختلاف معنی دار قابل مشاهده است ($p < 0.05$).

آزمون ماز Y (ارزیابی حافظه کاری)

نتایج حاصل از ANOVA و آزمون تعقیبی توکی نشان داد که درصد تناوب صحیح حرکتی در گروه TMT+Saline نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری دارد ($p < 0.01$). هرچند، بین گروه کنترل و گروه‌های TMT+FER25، TMT+FER50 و TMT+FER100 نیز اختلاف معنی‌داری (به ترتیب: $p < 0.01$ ، $p < 0.01$ و $p < 0.05$) دیده شد، مقایسه بین گروه TMT+Saline با گروه‌های دریافت کننده فرولیک اسید نشان داد که بین گروه TMT+FER50 با گروه TMT+Saline ($p < 0.05$) و بین گروه TMT+FER100 با گروه TMT+Saline ($p < 0.05$) اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در بین گروه‌های دریافت کننده فرولیک اسید بین گروه TMT+FER25 با گروه‌های



نمودار ۱. مقایسه میانگین (± انحراف معیار) تعداد دفعات عبور از مربع‌های کناری در آزمون محفظه باز در گروه‌های مختلف. نتایج نشان داد که بین گروه کنترل با گروه‌های TMT+Saline، TMT+FER25 و TMT+FER50 اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.001$ و $p < 0.01$ و $p < 0.05$). همچنین، بین گروه TMT+Saline با گروه TMT+FER50 ($p < 0.05$) و TMT+FER100 اختلاف معنی‌داری دیده می‌شود ($p < 0.01$) و بین گروه TMT+FER25 با گروه TMT+FER100 نیز تفاوت معنی‌دار است ($p < 0.05$).

عبور از مربعات مرکزی

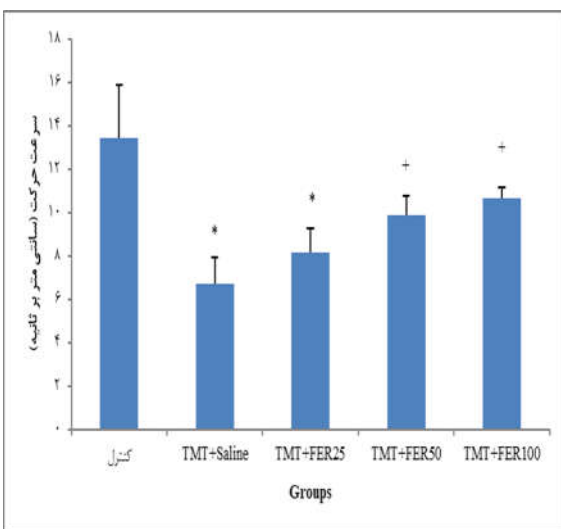
تعداد دفعات عبور از مربع‌های مرکزی در گروه TMT+Saline نسبت به گروه کنترل کاهش قابل توجهی نشان داد ($p < 0.01$). همچنین، بین گروه کنترل با گروه‌های TMT+FER25 و TMT+FER50 ($p < 0.01$) و گروه TMT+FER100 ($p < 0.05$) اختلاف معنی‌دار دیده شد. از طرف دیگر، نتایج نشان‌دهنده تاثیر تجویز فرولیک اسید در دوران جنینی بر کاهش اضطراب و افزایش رفتارهای اکتشافی (تعدد دفعات عبور از مربع‌های مرکزی) در گروه TMT+FER100 نسبت به گروه TMT+Saline است ($p < 0.05$). بین گروه TMT+FER100 با گروه TMT+FER25 اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$) (نمودار ۲).

مدت زمان بی حرکتی

نتایج حاصل نشان داد که مدت زمان بی‌حرکتی حیوان پس از قرار گرفتن در محفظه باز در گروه TMT+Saline نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری دارد ($p < 0.01$). همچنین، گروه کنترل با گروه‌های TMT+FER25، TMT+FER50 و TMT+FER100 نیز اختلاف معنی‌دار دارد ($p < 0.01$). این در حالی است که علیرغم کاهش

آزمون راه رفتن شعاعی

نتایج حاصل نشان دهنده کاهش معنی‌دار سرعت پیمایش مسیر در گروه‌های TMT+Saline و TMT+FER25 نسبت به گروه کنترل می‌باشد ($p < 0/05$). همچنین، گروه‌های TMT+Saline و TMT+FER50 و TMT+FER100 با گروه TMT+Saline با افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0/05$). نتایج این آزمون نشان می‌دهد که میزان سرعت پیمایش مسیر که رابطه مستقیمی با تعادل حرکتی دارد در گروه‌های تیمار با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ فرولیک اسید نسبت به گروه TMT+Saline بهبود قابل توجهی دارد (نمودار ۵).

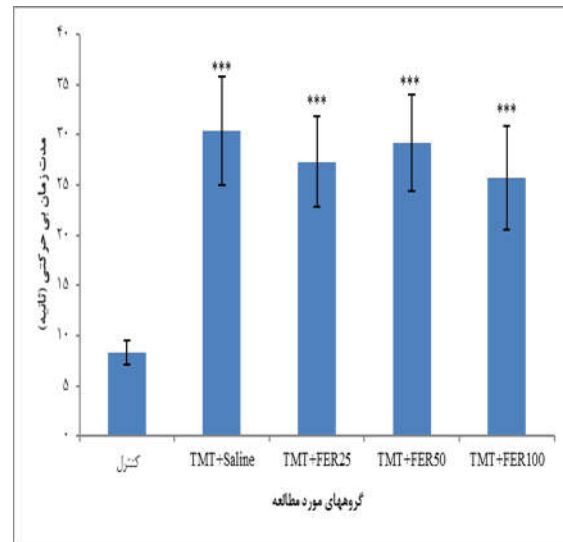


نمودار ۵. مقایسه میانگین (\pm خطای معیار) سرعت پیمایش مسیر طی آزمون راه رفتن شعاعی. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های TMT+Saline و TMT+FER25 با گروه کنترل وجود دارد ($p < 0/05$). همچنین، بین گروه‌های TMT+Saline و TMT+FER50 و TMT+FER100 نیز اختلاف معنی‌دار است ($p < 0/05$).

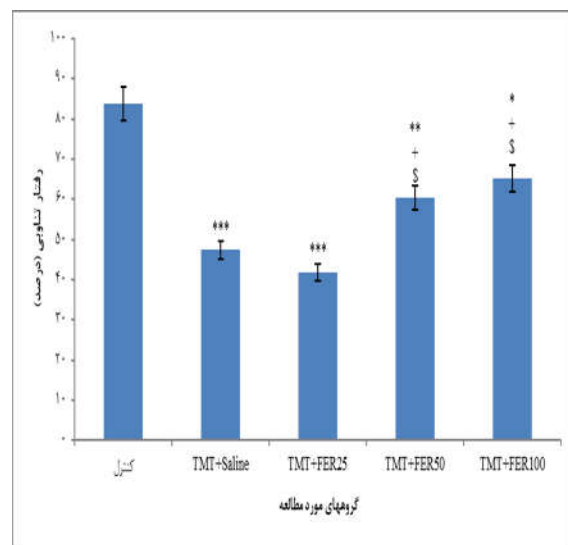
آزمون راه رفتن شبکه‌ای

نتایج حاصل از ANOVA و تست تعقیبی توکی در گروه‌های مختلف نشان داد که در درصد خطای دست راست افزایش معنی‌داری در گروه TMT+Saline با گروه کنترل دارد ($p < 0/01$). همچنین، بین گروه کنترل و گروه‌های TMT+FER25 و TMT+FER50 نیز اختلاف معنی‌دار است ($p < 0/01$). در گروه TMT+FER100 و در مقایسه با گروه TMT+Saline کاهش معنی‌داری در درصد خطای دست راست دیده شد ($p < 0/05$). در واقع، نتایج نشان دهنده اثر گذاری فرولیک اسید بر کاهش خطای دست راست در دوز

TMT+FER50 و TMT+FER100 نیز اختلاف معنی‌دار دیده شد (نمودار ۴، $p < 0/05$).



نمودار ۳. مقایسه میانگین (\pm انحراف معیار) مدت زمان بی حرکتی در آزمون محفظه باز در گروه‌های مختلف. نتایج نشان داد که بین گروه کنترل با تمامی گروه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار است ($p < 0/001$).



نمودار ۴. مقایسه میانگین (\pm انحراف معیار) درصد تناوب صحیح حرکتی در گروه‌های مختلف. نتایج نشان داد که بین گروه کنترل با گروه TMT+Saline، TMT+FER25 و TMT+FER50 اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0/001$) و $p < 0/01$ و $p < 0/05$ بین گروه‌های TMT+Saline و TMT+FER100 نیز اختلاف معنی‌دار دیده شد ($p < 0/05$). همچنین، بین گروه‌های TMT+FER50 و TMT+FER100 با گروه TMT+FER25 اختلاف معنی‌داری قابل مشاهده است ($p < 0/05$).

بحث

مطالعه حاضر اثر تجویز پری‌ناتال تری‌متیل‌تین (TMT) بر بروز اختلال شناختی، فعالیت لوکوموتور، اختلال حرکتی، رفتارهای شبه اضطرابی و اکتشافی در نوزادان یک ماهه موش‌های صحرایی را مورد ارزیابی قرار داد. متعاقب مسمومیت مادران با TMT (دوز ۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، نوزادان حاصل نشانه‌هایی از اختلال بیش‌فعالی همراه با نقص توجه (ADHD) دارند. اختلال در حافظه کاری، هایپراکتیویته، اضطراب، کاهش رفتارهای اکتشافی، نقص در تعادل و یادگیری حرکتی در نوزادان یک ماهه دیده شد. هر یک از این رفتارها به کمک آزمون‌های معتبر رفتاری و با چندین تکرار توسط آزمایشگر بررسی شد. از طرف دیگر، نتایج نشان داد که تجویز فرولیک اسید به عنوان یک آنتی‌اکسیدان می‌تواند اختلالات شناختی، رفتاری و حرکتی ناشی از مسمومیت پری‌ناتال با TMT را در موش‌های صحرایی کاهش دهد. هرچند، بروز علائم رفتاری- شناختی ناشی از مسمومیت با TMT در انسان و جوندگان از جمله گیچی، فراموشی، تشنج، بی‌خوابی و افسردگی به اثبات رسیده است (۲۱). با این حال، مطالعات اندکی اثرات مسمومیت پری‌ناتال TMT و ارتباط آن را با پاتولوژی ADHD مورد بررسی قرار داده‌اند. مطالعات آزمایشگاهی مرگ انتخابی نوروها در سیستم لیمبیک و به ویژه هیپوکامپ، نقصان حافظه و اختلال در روند یادگیری را متعاقب مسمومیت با TMT نشان داده‌اند و از این رو از آن به عنوان مدلی از اختلال شناختی نام برده‌اند (۲۲). در مطالعه حاضر نقص در عملکرد حافظه کاری با آزمون ماز Y (سنجش رفتار تناوبی) متعاقب مسمومیت پری‌ناتال با TMT دیده شد. نتایج نشان داد که در گروه TMT+Saline که در روز ۱۴ بارداری در مواجهه با TMT بودند و از روز ۱۲ تا ۱۶ بارداری، نرمال سالیان به آنها گواژ شده است، نسبت به گروه کنترل در عملکردهای شناختی و حافظه کاری نقص دارند.

حداکثر است. هرچند، در دوزهای پایین بهبودی در خطای دست راست دیده نشد (جدول ۲). بین گروه‌های TMT+FER25 و TMT+FER50 با گروه TMT+FER100 نیز اختلاف معنی‌داری دیده شد ($p < 0.05$). در ارزیابی درصد خطای دست چپ، نتایج نشان داد که در گروه‌های TMT+Saline و TMT+FER25 نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.001$). از طرفی، بین گروه TMT+Saline با گروه‌های TMT+FER50 و TMT+FER100 اختلاف معنی‌داری دیده می‌شود ($p < 0.001$). این امر نشان دهنده اثر فرولیک اسید بر کاهش میزان خطای دست چپ و هماهنگی بین دست‌ها طی آزمون راه رفت شبکه‌ای است. گروه TMT+FER25 با گروه‌های TMT+FER50 و TMT+FER100 افزایش معنی‌داری در این شاخص نشان داد ($p < 0.001$). در ارزیابی درصد خطای پای راست بین گروه کنترل با گروه‌های TMT+Saline، TMT+FER25 و TMT+FER50 ($p < 0.001$) و با گروه TMT+FER100 ($p < 0.01$) اختلاف معنی‌داری قابل مشاهده است. کاهش میزان خطای پای راست در گروه‌های دریافت‌کننده فرولیک اسید در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم نسبت به گروه TMT+Saline دیده شد ($p < 0.01$). درصد خطای پای چپ در گروه کنترل نسبت به گروه‌های TMT+Saline و TMT+FER25 کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.001$). هر چند این میزان در گروه‌های TMT+FER50 و TMT+Saline با گروه TMT+FER100 نیز با کاهش معنی‌داری روبرو بود ($p < 0.01$). همچنین، اختلاف معنی‌داری بین گروه TMT+FER25 با دو گروه دیگر تیمار با فرولیک اسید با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم دیده شد (جدول ۲) ($p < 0.05$).

جدول ۲. مقایسه میانگین \pm خطای استاندارد درصد خطای دست و پا در آزمون راه رفتن شبکه‌ای در گروه‌های مختلف

گروه/ پارامتر	خطای دست راست	خطای دست چپ	خطای پای راست	خطای پای چپ
کنترل	۵/۱۱ \pm ۱/۴۳	۸/۴۳ \pm ۱/۰۷	۱۰/۱۸ \pm ۲/۶۳	۱۰/۱۸ \pm ۲/۶۳
TMT+Saline	* ۱۱/۹۰ \pm ۳/۰۶	* ۲۱/۳۶ \pm ۳/۶۲	* ۳۴/۲۱ \pm ۴/۵۲	* ۲۱/۴۲ \pm ۳/۳۸
TMT+FER25	* ۱۰/۸۵ \pm ۲/۷۶	* ۲۰/۴۶ \pm ۵/۱۱	* ۳۱/۹۷ \pm ۳/۸۴	* ۱۹/۰ \pm ۳/۹۸
TMT+FER50	* ۹/۴۳ \pm ۲/۶۳	† ۱۰/۸۷ \pm ۲/۷۵	† ۲۶/۳۸ \pm ۴/۲۹	† ۱۲/۱۰ \pm ۳/۴۴
TMT+FER100	† ۶/۱۲ \pm ۱/۲۷	† ۱۲/۲۵ \pm ۳/۹۳	‡ ۱۹/۶۸ \pm ۳/۶۷	† ۱۴/۲۱ \pm ۳/۸۶
سطح معنی‌داری (ANOVA)	۰/۰۱۱	۰/۰۰۴	۰/۰۰۸	۰/۰۰۱

برای مقایسه گروه‌ها با هم از آنالیز تعقیبی Tukey استفاده شد. تعداد حیوانات در هر گروه ۱۵ سر موش صحرایی بود. سطح معنی‌داری در آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه $p < 0.05$ در نظر گرفته شد. * مقایسه با گروه کنترل، † مقایسه با گروه TMT+Saline، ‡ مقایسه با گروه TMT+FER25.

است برای جلوگیری از اختلال شناختی ناشی از TMT مفید باشد (۳۱).

هرچند، انتخاب مدل حیوانی ADHD به دلایل زیادی مانند عدم تعیین معیار مناسب برای جمعیت متجانس قابل تشخیص، ناشناخته بودن پاتولوژی و درجات متفاوت در شدت بیماری آسان نیست (۳۲). با این حال، Tamburella و همکارانش، این مدل را برای ارزیابی رفتاری ADHD در موش‌های صحرایی پیشنهاد می‌کنند (۴). به منظور بررسی اثرات سمیت TMT بر فعالیت لوکوموتور به عنوان شاخصه اصلی اختلال ADHD طی آزمون محفظه باز، بیش فعالی به همراه کاهش رفتارهای اکتشافی و در مدل حاضر و در گروه TMT+Saline نسبت به گروه کنترل دیده شد. مسمومیت با TMT احتمالاً سبب کاهش بیان فاکتور نوروتروفیک مغزی (BDNF) در هیپوکامپ می‌شود (۳۳). یکی از مکانیزم‌های اتیولوژیک بیماری ADHD، کاهش بیان فاکتور نوروتروفیک مغزی (BDNF) و گیرنده‌های TrkB در هیپوکامپ است (۳۴). BDNF دارای اثرات تروفیک در رشد و تکوین سیستم عصبی است (۳۴). با توجه به مشاهده رفتارهای شبه اضطرابی موش‌های صحرایی تیمار شده با TMT در دوران جنینی طی آزمون محفظه باز و بررسی کاهش محتوای BDNF در سرم خون و بافت هیپوکامپ در مطالعه قبلی ما (۳۳)، از این رو می‌توان اظهار داشت که احتمالاً یکی از دلایل بروز رفتارهای شبه اضطرابی، آسیب هیپوکامپ و کاهش محتوای نوروتروفینی BDNF در سطح خونی و هیپوکامپی حیوانات تیمار شده با TMT است.

هرچند، مطالعه‌ای در رابطه با اثر فرولیک اسید بر بهبود رفتارهای اضطرابی در مدل مسمومیت دوران پریناتال، نتوناتال یا بلوغ با TMT صورت نگرفته است. با این حال، اثرات ضد اضطرابی فرولیک اسید و ارتباط آن با مسیر سیگنالی NMDA دیده شده است. در واقع، گیرنده NMDA نقش تقویت کننده و تسهیل کننده در ارتبا با اثرات ضد اضطرابی فرولیک اسید در آزمون محفظه باز و ماز صلیبی مرتفع داشته است (۳۵).

مطالعه حاضر نشان داد که متعاقب مسمومیت پری‌ناتال با TMT، اختلال در تعادل، ناهماهنگی در حرکات دست و پا و اختلال در یادگیری حرکتی دیده می‌شود. در مطالعه قبلی ما دیده شد که مسمومیت با TMT سبب تخریب نورون‌های پورکینز و کاهش دانسیته نورونی سلولهای گرانولی به ویژه در فولیای V و VI می‌شود (۱۰). این بخش از مخچه با عملکردهای شناختی و یادگیری حرکتی در ارتباط هستند. همچنین، کاهش قابل توجه حجم مخچه و دانسیته نورونی

نتایج پژوهش‌های قبلی نشان داده است که فقدان نورنی و اختلال در عملکرد هیپوکامپ می‌تواند به آسیب در حافظه کاری منتج شود (۲۳). از طرفی، متعاقب مسمومیت با TMT، سلول‌های گرانولی ژيروس دندانهای و سپس سلول‌های هرمی در نواحی CA1، CA3 و CA4 هیپوکامپ تخریب می‌شوند (۲۴) که می‌تواند منجر به نقص در حافظه کاری شود. آسیب عصبی ایجاد شده در اثر TMT در نتیجه تولید گونه‌های اکسیژن و نیتروژن واکنشی است (۲۴). در واقع، TMT با فعال کردن کاسپاز ۳ سیگنالی را برای تخریب سلول نورون‌های هیپوکامپ، لوب بویایی و هسته پیشین بویایی در موش می‌فرستد (۲۵). مکانسیم‌های مولکولی TMT شامل اختلال در میتوکندری، استرس اکسیداتیو و اضافه بار کلسیم درون سلولی که منجر به نورودژنراسیون هیپوکامپ می‌شود (۲۴). اختلال در هموستاز آنزیم گلوکوتیون و عدم تعادل در وضعیت اکسیداتیو در پی تزریق TMT با دوز ۸/۵ میلی گرم برکیلوگرم وزن بدن موش صحرایی منجر به مرگ فزاینده نورون‌ها به ویژه در ناحیه هیپوکامپ می‌شود (۲۶). هرچند، تیمار با فرولیک اسید سبب بهبود قابل توجه در حافظه کاری گردید. در واقع با افزایش دوز فرولیک اسید، شدت اختلال شناختی ناشی از مسمومیت پریناتال TMT کاهش یافت. برخی از مطالعات علت ADHD را نقص در سیستم آنتی اکسیدانی، التهاب مزمن عصبی و آسیب اکسیداتیو نورونی عنوان می‌کنند و بنابراین، تعادل در سیستم آنتی اکسیدانی و تعدیه مبتنی بر آنتی اکسیدانها را در پیشگیری از بروز این اختلال موثر می‌دانند (۲۷). همچنین، از آنجایی که علت آسیب شناختی و رفتاری استرس اکسیداتیو ناشی از TMT است (۲۸)، لذا استفاده از فنول‌های گیاهی مانند فرولیک اسید می‌تواند در بهبود عوارض آن مفید واقع شود. حسن زاده و همکارانش نشان دادند که فرولیک اسید ضمن دارا بودن اثرات ضد تشنجی، از استرس اکسیداتیو و اختلالات شناختی ناشی از تجویز پنتیلن تترازول در مدل تشنج تونیک-کلونیک جلوگیری به عمل می‌آورد (۲۹). همچنین، فرولیک اسید دارای اثرات سودمندی در کاهش اختلال شناختی در مدل حیوانی بیماری دیابت است و با مهار سایتوکین‌های التهابی و کاهش بیان پروتئین تیروزین فسفاتاز ۱ بتا سهم قابل توجهی در بهبود آسیب سیگنالینگ انسولین در مغز دارد (۳۰). Kim و همکارانش بیان داشتند که اسید فرولیک باعث تخریب حافظه ناشی از مسمومیت با TMT می‌شود و همچنین، باعث کاهش فعالیت کولین استیل ترانسفراز در موش‌های صحرایی می‌شود. این مسئله نشان می‌دهد که فرولیک اسید ممکن

مطالعه حاضر برای نخستین بار اثرات پری‌ناتال TMT را بر یادگیری حرکتی، بروز رفتارهای شبه اضطرابی و اختلال در عملکردهای اکتشافی در موش‌های صحرایی نشان داد و با توجه به اثرگذاری TMT بر آسیب حافظه و شناخت این مدل را جهت ارزیابی رفتارهای شبه ADHD تایید می‌کند. همچنین، از آنجایی که تاکنون مطالعه‌ای درباره نقش فرولیک اسید در بهبود یادگیری حرکتی و شناختی پس از مسمومیت پری‌ناتال با TMT انجام نشده است، مطالعه حاضر نشان داد که تیمار با فرولیک اسید می‌تواند از شدت آسیب‌های شناختی، حرکتی و رفتاری در این مدل بکاهد و لذا می‌تواند آنتی‌اکسیدان‌ها و مصرف آن را در دوران بارداری راهی برای پیشگیری از ابتلا به اختلالات شناختی و رفتاری نوزادان دانست. با توجه به نقش سیگنال درون سلول BDNF، آسیب به این مسیر متعاقب مسمومیت با TMT و نقش احتمالی آن در بروز علائم اضطرابی همراه با نواقص شناختی انجام مطالعات ملکولی مسیر سیگنال دهی BDNF-Akt-CREB پیشنهاد می‌شود.

تقدیر و تشکر

از زحمات حوزه محترم پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی شیراز جهت فراهم آوردن شرایط و امکانات تحقیق حاضر تقدیر به عمل می‌آید.

مخچه در بیماران مبتلا به ADHD (۳۶) اتیولوژی مشترک بین مسمومیت پری‌ناتال با TMT و ADHD را نشان می‌دهد. نقص عملکردی مخچه در بسیاری از اختلالات تکاملی عصبی از جمله اوتیسم و ADHD دیده شده است (۳۶). اختلال در روند تکوین مخچه اثرات دراز مدت بر حرکت، شناخت و یادگیری حرکتی دارد. از آنجایی که آسیب به مخچه در مراحل اولیه تکوین، با شدت اختلالات بیشتری نسبت به آسیب آن در دوران بلوغ همراه است؛ لذا نقش مخچه در دوران جنینی در پاتولوژی بیماری‌های تکاملی عصبی از جمله ADHD اهمیت بالایی دارد (۳۶).

از طرفی، قرار گرفتن در معرض دوز پایین TMT آسیب سلول‌های گرانولی مخچه و قطعه قطعه شدن DNA را از طریق مسیر آپوپتوز نشان می‌دهد و غلظت‌های بالاتر TMT باعث نکروزه شدن می‌شوند، که در آن گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA و غیر NMDA درگیر هستند. سمیت تحریکی گلوتامات می‌تواند نقش مهمی را در آبخار سیگنالینگ مرتبط با آپوپتوز بازی کند (۳۷). بنابراین، در مطالعه حاضر، آسیب در یادگیری حرکتی احتمالاً ناشی از اختلال در عملکرد مخچه و آسیب سلول‌های پورکینژ است که تیمار با آنتی‌اکسیدان فرولیک اسید توانست شدت این آسیب را مشابه آنچه در آزمون راه رفتن شبکه‌ای دیده شد، کاهش دهد.

REFERENCES

1. Saary M, House R. Preventable exposure to trimethyltin chloride: a case Report. *Occup Med* 2002; 52:227-30.
2. Lee S, Yang M, Kim J, Kang S, Kim J, Kim JC, et al. Trimethyltin-induced hippocampal neurodegeneration: A mechanism-based review. *Brain Res Bull* 2016; 125:187-99.
3. Tanguay R, Dong Q, Chen J, Huang C, Zheng L, Simonich M, Bai C. Trimethyltin chloride (TMT) neurobehavioral toxicity in Embryonic zebrafish. *Neurotoxicol Teratol* 2011; 33: 721-26.
4. Tamburella A, Micale V, Mazzola C, Salomone S, Drago F. The selective norepinephrine reuptake inhibitor atomoxetine counteracts behavioral impairments in trimethyltin-intoxicated rats. *Eur J Pharmacol* 2012; 683:148-54.
5. Corvino V, Marchese E, Michetti F, Geloso MC. Neuroprotective strategies in hippocampal neurodegeneration induced by the neurotoxicant trimethyltin. *Neurochem Res* 2013 ;38:240-53.
6. Ptacek R, Weissenberger S, Braaten E, Klicperova-Baker M, Goetz M, Raboch J, et al. Clinical Implications of the Perception of Time in Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD): A Review. *Med Sci Monit* 2019; 25:3918-3924.
7. Tanguay R, Dong Q, Chen J, Huang C, Zheng L, Simonich M, et al. Trimethyltin chloride (TMT) neurobehavioral toxicity in Embryonic zebrafish. *Neurotoxicol Teratol* 2011; 33: 721-26.
8. Bruchhage MMK, Bucci MP, Becker EBE. Cerebellar involvement in autism and ADHD. *Handb Clin Neurol* 2018; 155:61-72.
9. Gunasekar P, Li L, Prabhakaran K, Eybl V, Borowitz J, Isom G. Mechanisms of the apoptotic and necrotic actions of trimethyltin in cerebellar granule cells. *Toxicol Sci* 2001; 64: 83-9.
10. Shams-Alam S, Edalatmanesh MA. The Effete of Lithium Chloride on the Granular Cell Density in Cerebellar Folia V and VI in a Trimethyltin Intoxication Model. *Shefaye Khatam* 2015; 3:41-48. [In Persian]

11. Kraft AD, McPherson CA, Harry GJ. Association between Microglia, Inflammatory Factors, and Complement with Loss of Hippocampal Mossy Fiber Synapses Induced by Trimethyltin. *Neurotox Res* 2016; 30:53-66.
12. Fornai F, Trabucco A, Pietro P, Nori SL, Fulceri F, Fumagalli L, et al. Methylated tin toxicity a reappraisal using rodents models. *Arch Ital Biol* 2009;147:141-53.
13. Moghadas M, Essa MM, Ba-Omar T, Al-Shehi A, Qoronfleh MW, Eltayeb EA, et al. Antioxidant therapies in attention deficit hyperactivity disorder. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2019; 24:313-33.
14. El-Bassosy H, Badawy D, Neamatallah T, Fahmy A. Ferulic acid, a natural polyphenol, alleviates insulin resistance and hypertension in fructose fed rats: Effect on endothelial-dependent relaxation. *Chem Biol Interact* 2016; 254:191-7.
15. Zduńska K, Dana A, Kolodziejczak A, Rotsztein H. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Possible Application. *Skin Pharmacol Physiol* 2018; 31:332-36.
16. Catino S, Paciello F, Miceli F, Rolesi R, Troiani D, Calabrese V, et al. Ferulic Acid Regulates the Nrf2/Heme Oxygenase-1 System and Counteracts Trimethyltin-Induced Neuronal Damage in the Human Neuroblastoma Cell Line SH-SY5Y. *Front Pharmacol* 2016; 6:305.
17. Edalatmanesh MA, Yazdani M, Davoodi A, Rafiei S. Anxiolytic Effect of Lithium Chloride in Model of PTZ-Induced Seizure. *Horizon Med Sci* 2018; 24:79-87. [In Persian]
18. Bagha N, Edalatmanesh M. Effectiveness of Erythropoietin on Working Memory, Passive Avoidance Learning and Anxiety- Like Behaviors in Prenatal Food Restriction Model. *Report of Health Care* 2018; 4: 36-43.
19. Edalatmanesh MA, Bahrami AR, Hosseini E, Hosseini M, Khatamsaz S. Neuroprotective effects of mesenchymal stem cell transplantation in animal model of cerebellar degeneration. *Neurol Res* 2011; 33:913-20.
20. Edalatmanesh MA, Nikfarjam H, Moghadas M, Haddad-Mashadrizeh A, Robati R, Hashemzadeh MR. Histopathological and behavioral assessment of toxin-produced cerebellar lesion: a potent model for cell transplantation studies in the cerebellum. *Cell J* 2014; 16:325-34.
21. Yoshikawa Y, Ago T, Kuroda J, Wakisaka Y, Tachibana M, Komori M, et al. Nox4 Promotes Neural Stem/Precursor Cell Proliferation and Neurogenesis in the Hippocampus and Restores Memory Function Following Trimethyltin-Induced Injury. *Neuroscience* 2019; 398:193-205.
22. Yuliani S, Widayari S, Mustofa, Partadiredja G. Turmeric extract inhibits apoptosis of hippocampal neurons of trimethyltin-exposed rats. *Bratisl Lek Listy* 2017; 118:142-8.
23. Cheng H, Sun G, Li M, Yin M, Chen H. Neuron loss and dysfunctionality in hippocampus explain aircraft noise induced working memory impairment: a resting-state fMRI study on military pilots. *Biosci Trends* 2019;13:430-40.
24. Marchese E, Corvino V, Di Maria V, Furno A, Giannetti S, Cesari E, et al. The Neuroprotective Effects of 17 β -Estradiol Pretreatment in a Model of Neonatal Hippocampal Injury Induced by Trimethyltin. *Front Cell Neurosci* 2018; 12:385.
25. Kim J, Yang M, Kim SH, Kim JC, Wang H, Shin T, et al. Possible role of the glycogen synthase kinase-3 signaling pathway in trimethyltin-induced hippocampal neurodegeneration in mice. *PLoS One* 2013; 8: e70356.
26. Shin EJ, Nam Y, Tu TH, Lim YK, Wie MB, Kim DJ, et al. Protein kinase C δ mediates trimethyltin-induced neurotoxicity in mice in vivo via inhibition of glutathione defense mechanism. *Arch Toxicol* 2016; 90:937-53.
27. Verlaet AAJ, Maasackers CM, Hermans N, Savelkoul HFJ. Rationale for Dietary Antioxidant Treatment of ADHD. *Nutrients* 2018;10:405.
28. Edalatmanesh MA, Shamsavan S, Rafiei S, Khodabandeh H. The Effect of Gallic Acid on Depression Symptoms, Oxidative Stress Markers and Inflammatory Cytokines in Rats' Hippocampus after TMT Intoxication: An Experimental Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2018; 17:815-28. [In Persian]
29. Hassanzadeh P, Arbabi E, Atyabi F, Dinarvand R. Ferulic acid exhibits antiepileptogenic effect and prevents oxidative stress and cognitive impairment in the kindling model of epilepsy. *Life Sci* 2017; 179:9-14.
30. Wang H, Sun X, Zhang N, Ji Z, Ma Z, Fu Q, et al. Ferulic acid attenuates diabetes-induced cognitive impairment in rats via regulation of PTP1B and insulin signaling pathway. *Physiol Behav* 2017; 182:93-100.
31. Kim MJ, Choi SJ, Lim ST, Kim HK, Heo HJ, Kim EK, et al. Ferulic acid supplementation prevents trimethyltin-induced cognitive deficits in mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 2007; 71:1063-8.
32. Posner J, Polanczyk GV, Sonuga-Barke E. Attention-deficit hyperactivity disorder. *Lancet* 2020; 395:450-62.

33. Edalatmanesh M A, Sheikholeslami M, Rafiei S. Evaluation of brain-derived neurotrophic factor expression and spatial memory after valproic acid administration in animal model of hippocampal degeneration. *Feyz* 2018; 22: 283-91. [In Persian]
34. Leo D, Sukhanov I, Zoratto F, Illiano P, Caffino L, Sanna F, et al. Pronounced Hyperactivity, Cognitive Dysfunctions, and BDNF Dysregulation in Dopamine Transporter Knock-out Rats. *J Neurosci* 2018; 38:1959-72.
35. Lorigooini Z, Nouri A, Mottaghinia F, Balali-Dehkordi S, Bijad E, Dehkordi SH, et al. Ferulic acid through mitigation of NMDA receptor pathway exerts anxiolytic-like effect in mouse model of maternal separation stress. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2020 May 6.
36. Stoodley CJ. The Cerebellum and Neurodevelopmental Disorders. *Cerebellum* 2016; 15:34-37.
37. Mundy WR, Freudenrich TM. Apoptosis of cerebellar granule cells induced by organotin compounds found in drinking water: involvement of MAP kinases. *Neurotoxicology* 2006; 27:71-81.