

## Effect of fish oil on motor coordination and oxidative stress in the male rats offspring affected by maternal hypoxia

Yaghoubi H<sup>1</sup>, Ghotbeddin Z<sup>2\*</sup>, Khazaeil K<sup>3</sup>, Tabandeh MR<sup>4</sup>

1- Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. Iran.

2- Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. Iran.

3- Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. Iran.

4- Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. Iran.

Received: 2020/11/14 | Accepted: 2021/02/23

### Abstract:

**Background:** Increased oxidative stress following maternal hypoxia is an important mechanism for postpartum motor response impairment. Because of the fact that the use of supplements such as omega-3 fatty acids has a protective role for the nervous system, in this study, the protective mechanism of fish oil during pregnancy stress by the hypoxia model on the motor coordination of male rat offspring was investigated.

**Materials and Methods:** In this experimental study, pregnant female rat (Wistar) were randomly divided into five experimental groups: control (without treatment), sham (saline recipient), hypoxia (%10 O<sub>2</sub>, %90 N<sub>2</sub>, 6 to 15 days of pregnancy), fish oil (1 ml), and hypoxia group treated with fish oil. To study the protective mechanism of fish oil, serum sampling of mothers and offspring was done to measure oxidative stress indicators. Motor activity and balance were examined in the 30-day-old offspring by open field and rotarod tests. Data were statistically assessed by one-way ANOVA followed by Tukey post-hoc test.

**Results:** While fish oil treatment increased motor activity in the fish oil/hypoxia group compared to the hypoxia group and decreased oxidative stress ( $P < 0.05$ ), motor and oxidative stress parameters decreased and increased in hypoxia group compared to the sham group, respectively.

**Conclusion:** According to the results, fish oil treatment during chronic maternal hypoxia can improved motor activity and balance by reducing oxidative stress caused by hypoxia.

**Keywords:** Oxidative stress, Fish oil, Motor coordination, Rat, Maternal hypoxia.

### \*Corresponding Author

Email: z.ghotbeddin@scu.ac.ir

Tel: 0098 916 600 3655

Fax: 0098 613 360 807

Conflict of Interests: *No*

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2021; Vol. 25, No 2, Pages 813-822*

Please cite this article as: Yaghoubi H, Ghotbeddin Z, Khazaeil K, Tabandeh MR. Effect of fish oil on motor coordination and oxidative stress in the male rats offspring affected by maternal hypoxia. *Feyz* 2021; 25(2): 813-22.

# تأثیر روغن ماهی بر هماهنگی حرکتی و استرس اکسیداتیو در زاده‌های نر موش صحرایی متأثر از هیپوکسی بارداری

هوشیار یعقوبی<sup>۱</sup>، زهره قطب‌الدین<sup>۲\*</sup>، کاوه خزانلی<sup>۳</sup>، محمدرضا تابنده<sup>۴</sup>

## خلاصه:

**سابقه و هدف:** افزایش استرس اکسیداتیو به دنبال هیپوکسی بارداری، یک مکانیسم مهم برای اختلال در پاسخ‌های حرکتی بعد از تولد است. با توجه به این که استفاده از مکمل‌هایی نظیر اسیدهای چرب امگا-۳ نقش محافظتی برای سیستم عصبی دارد، در این مطالعه، مکانیسم محافظتی روغن ماهی، طی ایجاد استرس بارداری با مدل هیپوکسی بر هماهنگی حرکتی زاده‌های نر موش صحرایی بررسی شد. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی ماده باردار (ویستار) به‌طور تصادفی به ۵ گروه آزمایشی تقسیم شدند: کنترل (بدون تیمار)، شاهد (دریافت‌کننده سالین)، هیپوکسی (۱۰ درصد اکسیژن، ۹۰ درصد نیتروژن، روز ۶ تا ۱۵ بارداری)، روغن ماهی (۱ میلی‌لیتر) و گروه هیپوکسی تیمار شده با روغن ماهی. برای مطالعه مکانیسم محافظتی روغن ماهی، نمونه‌گیری از سرم مادران و زاده‌ها برای سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتیو انجام شد. فعالیت حرکتی و تعادل نیز در زاده‌های نر ۳۰ روزه با آزمون‌های جعبه باز و روتارود ارزیابی شدند. داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی بررسی شدند. **نتایج:** حرکت و شاخص‌های استرس اکسیداتیو به‌ترتیب در گروه هیپوکسی نسبت به گروه شاهد، کاهش و افزایش معنی‌داری یافت؛ در حالی که تیمار با روغن ماهی، فعالیت حرکتی را در گروه روغن ماهی/هیپوکسی نسبت به گروه هیپوکسی افزایش و استرس اکسیداتیو را کاهش داد ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج، تیمار روغن ماهی در طی هیپوکسی مزمن دوران بارداری با کاهش استرس اکسیداتیو ایجاد شده به دنبال هیپوکسی، می‌تواند باعث بهبود فعالیت حرکتی و تعادل شود.

**واژگان کلیدی:** استرس اکسیداتیو، روغن ماهی، هماهنگی حرکتی، موش صحرایی، هیپوکسی بارداری

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و پنجم، شماره ۲، خرداد - تیر ۱۴۰۰، صفحات ۸۱۳-۸۲۲

## مقدمه

هیپوکسی (Hypoxia) به‌عنوان یکی از رایج‌ترین استرس‌های بالینی در دوران بارداری اثرات مخربی بر قشر حسی - حرکتی دارد و منجر به سازمان‌دهی ناقص در واکنش‌های حرکتی می‌شود [۳]. عوامل مختلفی نظیر ایسکمی / هیپوکسی بارداری، ارتفاع بالا، فشارخون بالای مادران در دوران بارداری و آلودگی محیط‌زیست باعث هیپوکسی جنین می‌شوند [۴]. مهم‌ترین سیستمی که تحت تأثیر این هیپوکسی قرار می‌گیرد، سیستم عصبی است. اختلال در جریان خون مغز و متابولیسم آن به دنبال هیپوکسی بارداری می‌تواند منجر به تغییرات نوروپاتولوژی در درازمدت و اختلال حرکتی شود [۵]. فعالیت عصبی مناسب، برای تنظیم عملکردهای فیزیولوژیکی در سرتاسر ارگانیسم حیاتی است و هرگونه اختلال در عملکرد عصبی عواقب جدی به دنبال دارد. نوروها به اکسیژن در دسترس بسیار وابسته‌اند و هرگونه تغییر در ذخیره‌ی اکسیژن منجر به آسیب‌پذیری شدید بافت عصبی می‌شود. تنها چند دقیقه محرومیت از اکسیژن می‌تواند سبب القای مرگ سلولی شود [۶]. کمبود اکسیژن در دوره‌های حساس از شکل‌پذیری سیناپسی می‌تواند عملکرد نوروها را تحت تأثیر قرار دهد و مرگ سلولی را القا کند. همچنین می‌تواند منجر به تغییرات رفتاری طولانی‌مدت نظیر اختلال حافظه و حرکت شود [۶].

رشد و تکامل جنین یک فرآیند پیچیده و پویا است و برای تضمین رشد ایده‌آل و مطلوب وجود تعامل مناسب بین مادر، جنین و جنین ضروری است [۱]. مطالعات اپیدمیولوژیک، بالینی و تجربی زیادی نشان می‌دهند که استرس دوران بارداری می‌تواند آسیب‌های جزئی و یا حتی شدیدی به بافت، ساختار و عملکرد جنین وارد کند و در نهایت باعث تسریع و افزایش احتمال ابتلا به برخی بیماری‌ها در دوران بعد از تولد شود [۲].

۱. کارشناسی ارشد، گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۳. استادیار، گروه آناتومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۴. دانشیار، گروه بیولوژی مولکولی و بیوشیمی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

## \* نشانی نویسنده مسئول:

اهواز، دانشکده شهید چمران اهواز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه

تلفن: ۰۹۱۶۶۰۰۳۶۵۵ | دوره‌نویس: ۰۶۱۳۳۶۰۸۰۷

پست الکترونیک: z.ghotbeddin@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۸/۲۴ | تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۱۲/۵

استرس اکسیداتیو در سرم مادران و زاده‌های موش صحرائی طراحی شد.

### مواد و روش‌ها

تمام مراحل آزمایش براساس دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز طراحی و با کد EE/97.24.3.49918/scu.ac.ir اجرا شد. در این مطالعه تجربی از موش‌های بارداری نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم، تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای نگهداری  $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت  $55 \pm 5$  درصد استفاده شد. همه حیوانات به‌صورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. برای تعیین زمان دقیق بارداری از موش‌ها اسمیر واژنی گرفته شد و با مشاهده اولین اسپرماتوزوئید در اسمیر واژنی، آن روز به‌عنوان روز صفر بارداری در نظر گرفته شد. موش‌های جفت‌گیری شده درون قفس‌های جداگانه نگهداری و به‌طور تصادفی به ۵ گروه آزمایشی (تعداد ۶ سر موش بارداری در هر گروه) تقسیم شدند: کنترل (بدون تیمار خاص)، شاهد، هیپوکسی، روغن ماهی با دوز ۱ میلی‌لیتر (-F8020 Sigma) و گروه هیپوکسی تیمار شده با روغن ماهی. هیپوکسی با شدت اکسیژن ۱۰ درصد و نیتروژن ۹۰ درصد در جعبه هیپوکسی در روز ۶ تا ۱۵ بارداری، هر روز به مدت ۳ ساعت به روش مزمین اعمال شد [۱۱]. گروه‌های روغن ماهی در مدت‌زمان مشابه با گروه هیپوکسی، هر روز ۱ میلی‌لیتر روغن ماهی را به شکل گاوآذ دریافت کردند [۱۲]. به گروه شاهد نیز در مدت‌زمان مشابه سالین، گاوآذ شد. کلیه آزمایش‌ها در زمان روشنایی، بین ساعت ۸ صبح الی ۴ بعدازظهر به‌منظور جلوگیری از تأثیر ریتم شبانه‌روزی حیوان بر آزمایش‌ها انجام گرفت. حیوانات یک ساعت قبل از شروع آزمون به آزمایشگاه منتقل می‌شدند تا با شرایط آزمایشگاه عادت کنند.

روش اعمال هیپوکسی: برای اعمال هیپوکسی از یک محفظه شیشه‌ای حاوی یک فن، دریچه ورودی و خروجی هوا که به یک کپسول اکسیژن و یک کپسول نیتروژن متصل می‌شود، استفاده شد. نحوه‌ی ایجاد مدل هیپوکسی به این‌صورت بود که موش‌های بارداری در روز ۶ام تا ۱۵ام بارداری داخل جعبه قرار می‌گرفتند و با تنظیم ورود اکسیژن ۱۰ درصد و نیتروژن ۹۰ درصد به داخل جعبه، به‌مدت ۵ دقیقه دریچه ورود و خروج هوا را باز نگه می‌داشتیم تا هوای داخل جعبه خارج و خلأ ایجاد شود. تعیین میزان اکسیژن محفظه به کمک دستگاه اکسی‌متر تنظیم می‌شد. برای مخلوط شدن کامل هوای داخل جعبه هیپوکسی، فن روشن

حساسیت مغز در حال رشد به هیپوکسی به ترکیب لیپیدی غشای سلولی مغز، میزان پراکسیداسیون لیپید و دفاع آنتی‌اکسیدانی بستگی دارد. تغذیه و اکسیژن هر دو برای رشد مطلوب جنین ضروری هستند و با توجه به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کم جنین، آسیب‌پذیری آن نسبت به مولکول‌های اکسیدان بیشتر است. هیپوکسی داخل‌رحمی با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species; ROS) تأثیر مخربی بر تکامل جنین و آسیب بافت‌های حساس از جمله سیستم عصبی در زاده‌ها دارد [۷]. در سال‌های اخیر به بررسی نقش اکسیدان‌ها و رادیکال‌های آزاد در پاتوفیزیولوژی هیپوکسی پرداخته شده است و نتایج یک مطالعه نشان می‌دهد که تجویز ویتامین C و ملاتونین در گوسفند بارداری با افزایش تولید نیتریک اکسید و کاهش تولید آنیون سوپراکسید باعث افزایش خون‌رسانی به جنین می‌شود و بین کاهش اکسیژن و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در دوران بارداری و تأثیر آن بر تکامل و رشد جنین ارتباط مستقیم وجود دارد [۸]. دوکوزاهگزانوئیک اسید (Docosahexaenoic acid) و آراشیدونیک اسید (Arachidonic acid) از اسیدهای چرب ضروری هستند که نقش حیاتی برای تکامل جنین در دوران رحمی دارند و از مادر به جنین منتقل می‌شوند. مصرف روغن ماهی با داشتن این دو اسید چرب باعث افزایش زمان بارداری و جلوگیری از زایمان زودرس می‌شود و نقش کلیدی برای تکامل جنین در طی دوران بارداری دارد [۹]. این اسیدهای چرب با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی باعث محافظت بافت در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند [۱۰]. اسیدهای چرب امگا ۳ از اسیدهای چرب مهم در غشای سلول‌های عصبی هستند که بسیاری از یافته‌ها اثر آنتی‌اکسیدانی آن‌ها را تأیید می‌کنند. در تحقیقات انجام‌شده در مدل‌های حیوانی بیماری‌های نورودژنراتیو به اثر مثبت DHA در مهار استرس اکسیداتیو و التهاب و افزایش ژن‌های مرتبط با بقای سلول اشاره شده است [۱۰]. مطالعات بالینی نیز تأییدکننده اثر آنتی‌اکسیدانی روغن ماهی هستند. از آنجایی که افزایش استرس اکسیداتیو به‌دنبال هیپوکسی بارداری یک مکانیسم مهم برای محدودیت رشد جنین و اختلال در پاسخ‌های حرکتی بعد از تولد است [۷]؛ و از طرفی به نقش آنتی‌اکسیدانی روغن ماهی در بسیاری از مطالعات گذشته اشاره شده است، ولی تأثیر روغن ماهی در کنار اعمال هیپوکسی بارداری بر پاسخ‌های حرکتی تاکنون در هیچ مطالعه‌ای بررسی نشده است، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر روغن ماهی در طی ایجاد استرس دوران بارداری با مدل هیپوکسی بر فعالیت حرکتی زاده‌ها و پارامترهای

پراکسیداز (GPx Glutathione peroxidase)، کاتالاز (Catalase; CAT) و مالون‌دی‌آلدئید (Malondialdehyde; MDA) ارزیابی شدند. مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص انتهایی پراکسیداسیون لیپیدها براساس اندازه‌گیری مقادیر مالون‌دی‌آلدئید واکنش‌یافته با تایوباریتوریک اسید (TBARS) اندازه‌گیری شد. مقدار مالون‌دی‌آلدئید براساس نانومول/میلی‌لیتر سرم نمونه محاسبه گردید. اندازه‌گیری فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز با استفاده از کیت شرکت رندوکس انجام شد و میزان فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز نمونه‌ها برحسب واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر سرم بیان شد [۱۴]. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز توسط کیت تجاری سوپراکسید دیسموتاز (RANSOD kit, Randox Com, UK) بررسی شد و فعالیت آنزیم براساس واحد IU/mg سرم گزارش گردید [۱۵]. لازم به ذکر است که در کارهای رفتاری تعداد ۸ زاده موش در هر گروه استفاده شد و از ۸ زاده موش، ۵ سر موش در مطالعه بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند. دلیل تفاوت تعداد موش‌ها در دو کار رفتاری و بیوشیمیایی، تنوع رفتاری بالا در موش‌ها به لحاظ تفاوت در آموزش‌پذیری، سطح توانمندی انفرادی و فعالیت فیزیکی است و برای کاهش پراکندگی داده‌ها ناگزیر به استفاده از تعداد بیشتری موش در کار رفتاری شدیم؛ درحالی‌که برای مطالعه بیوشیمیایی چون variation کمتر است، تعداد نمونه کمتری استفاده شد.

#### تجزیه و تحلیل آماری

تمام داده‌ها به‌صورت  $(\bar{X} \pm SEM)$  گزارش شد. تجزیه و تحلیل آماری و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار گراف‌پد پرسم ۸ (GraphPad Prism 8) و با در نظر گرفتن سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد. تفاوت آماری پارامترهای مختلف بین گروه‌های مورد مطالعه در آزمون‌های رفتاری و استرس اکسیداتیو با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون متعاقب Tukey انجام گرفت و از آزمون t مستقل برای مقایسه گروه کنترل و شاهد استفاده شد.

#### نتایج

در ابتدا گروه کنترل و شاهد با یکدیگر مقایسه شدند و با توجه عدم اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه، تمام گروه‌ها با گروه شاهد مقایسه شدند. به‌منظور بررسی اثر روغن ماهی هم‌زمان با ایجاد مدل هیپوکسی طی دوران بارداری بر فعالیت حرکتی زاده‌ها از آزمون‌های روتارود و جعبه باز استفاده شد و پارامترهای میزان کل‌جابه‌جایی، سرعت حرکت، تعداد بلند شدن روی دو پا، با استفاده از آزمون جعبه باز و تعادل حرکتی به کمک آزمون

می‌شد. سپس دریچه ورود و خروج هوا را بسته، به مدت ۳ ساعت موش‌ها در معرض هوایی با شدت ۱۰ درصد اکسیژن و ۹۰ درصد نیتروژن قرار می‌گرفتند. نمونه‌گیری از سرم گروه‌های مختلف در ۳ نوبت انجام شد. در مرحله اول و دوم در روز ۱۵ و ۲۰ بارداری، و مرحله سوم ۳۰ روز بعد از تولد زاده‌ها به این صورت انجام شد که موش‌ها توسط مخلوط کتامین (۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) - زایلازین (۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و بعد از خون‌گیری از قلب حیوان (به میزان ۲ سی‌سی از هر حیوان)، خون گرفته‌شده به میکروتیوب ۲ میکرولیتری انتقال داده شد و با استفاده از سانتریفیوژ MiniSpin (اپندورف، آلمان)، در دور ۲۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سرم آن جدا شد و به فریزر -۲۰ جهت بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو منتقل گردید.

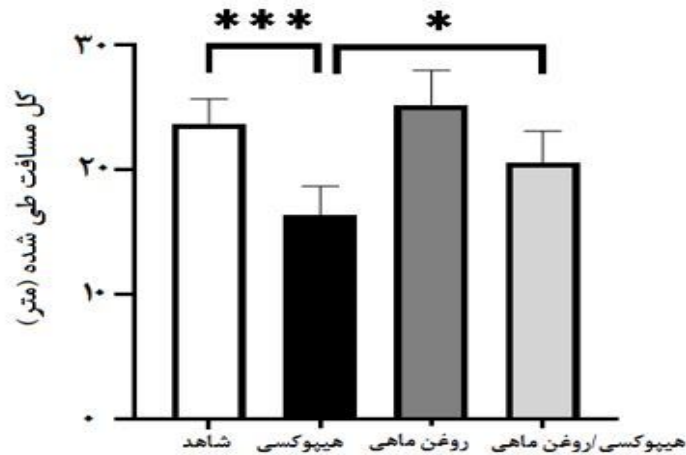
آزمون جعبه باز (Open field) جهت سنجش فعالیت حرکتی آزمون جعبه باز: جعبه باز از یک صفحه چهارگوش به ابعاد ۷۰ در ۷۰ سانتی‌متر به ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر که فضای داخل آن سیاه‌رنگ شده، ساخته و کف آن با خطوطی به ۲۵ مربع تقسیم شده بود (ساخت شرکت برج صنعت آزما، ایران). در ابتدا هر موش در مرکز صفحه قرار گرفت و فعالیت آن برای ۱۰ دقیقه ثبت شد و سپس پارامترهای رفتاری؛ شامل: کل مسافت جابه‌جا شده، سرعت حرکت و فرکانس بلند شدن روی دو پا، ثبت شد و مورد بررسی قرار گرفت [۱۳]. برای ارزیابی این شاخص‌ها فعالیت هر موش با دوربین و هم‌زمان توسط نرم‌افزار ویدئو تراکینگ ارزیابی شد.

آزمون روتارود (Rotarod) جهت سنجش تعادل و هماهنگی حرکتی

آزمون روتارود: برای ارزیابی تعادل و قدرت هماهنگی حرکتی بین اندام‌ها از دستگاه روتارود استفاده شد. برای این منظور حیوان روی میله افقی چرخنده در حال چرخش با قطر ۵ سانتی‌متر (شرکت برج صنعت آزما، مدل m.t6700 ساخت ایران) که سرعت آن از ۵ به ۴۵ دور در دقیقه در مدت ۳۰۰ ثانیه افزایش داده شد، قرار گرفت و زمان حفظ تعادل و باقی ماندن روی میله برای هر حیوان ثبت شد. ابتدا به هر حیوان دو بار فرصت برای عادت کردن و تطابق با دستگاه داده شد و سپس در مرحله آزمون سه بار دیگر حیوان روی دستگاه قرار گرفت و میانگین زمان به‌دست‌آمده در مرحله آزمون محاسبه شد [۱۴]. کلیه آزمون‌های رفتاری در زاده‌های ۳۰ روزه ارزیابی و سنجش شدند. ارزیابی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در سرم مادران و زاده‌های نر شاخص‌های آنتی‌اکسیداتیو، شامل: سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase; SOD)، گلوکوتاتیون

کل مسافت طی شده، بیانگر کاهش معنی دار جابه‌جایی کل در گروه هیپوکسی نسبت به گروه شاهد بود ( $P=0/000$ ). در حالی که تیمار با روغن ماهی در طی اعمال هیپوکسی مزمن بارداری، مسافت طی شده زاده‌ها در آزمون جعبه باز را نسبت به گروه هیپوکسی افزایش داد ( $P=0/053$ ) (نمودار شماره ۱).

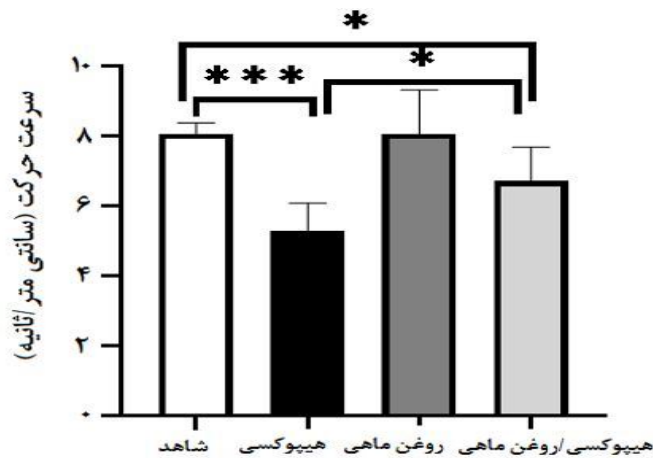
روتارود بین گروه‌های مورد مطالعه بررسی و با یکدیگر مقایسه شدند. میانگین و انحراف معیار کل مسافت طی شده در مدت ۱۰ دقیقه، در گروه شاهد، هیپوکسی و در گروه‌های دریافت‌کننده روغن ماهی به ترتیب  $23/65 \pm 6/67$ ،  $16/05 \pm 1/32$ ،  $19/78 \pm 1/16$  و  $25/17 \pm 1/16$  متر به دست آمد. نتایج مقایسه میانگین



نمودار شماره ۱- مقایسه میانگین کل مسافت طی شده با استفاده از آزمون جعبه باز. \*\*\* و \* به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در سطح  $P < 0/001$  و  $P < 0/05$  است. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار نشان داده شده‌اند ( $n=8$ ). آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی)

ماهی به ترتیب با ( $P=0/001$ ) و ( $P=0/0491$ ) کاهش معنی داری نسبت به گروه شاهد یافت. مصرف روغن ماهی همزمان با اعمال هیپوکسی بارداری باعث افزایش معنی دار میانگین سرعت حرکت در گروه هیپوکسی / روغن ماهی نسبت به گروه هیپوکسی شد ( $P=0/0430$ ) (نمودار شماره ۲).

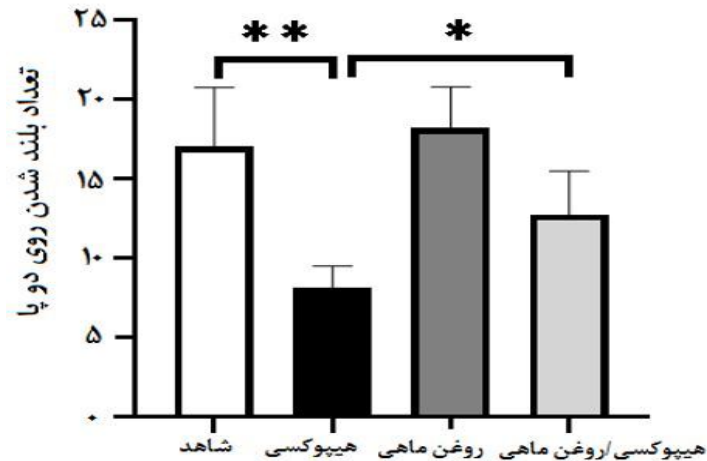
میانگین سرعت حرکت در گروه شاهد، هیپوکسی و دریافت‌کننده روغن ماهی به ترتیب  $8/05 \pm 0/11$ ،  $5/64 \pm 0/44$ ،  $8/21 \pm 0/47$  و در گروه‌های هیپوکسی دریافت‌کننده روغن ماهی  $6/51 \pm 0/54$  سانتی‌متر بر ثانیه به دست آمد. میانگین سرعت حرکت در زاده‌های گروهی که مادران آن‌ها در طی دوران بارداری تحت تأثیر هیپوکسی قرار گرفته بودند و گروه هیپوکسی تیمار شده با روغن



نمودار شماره ۲- مقایسه میانگین سرعت حرکت در آزمون جعبه باز. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار نشان داده شده‌اند. \* تفاوت معنی دار را در سطح ( $P < 0/05$ ) و \*\*\* در سطح ( $P < 0/001$ ) نشان می‌دهد. ( $n=8$ ). آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی

نسبت به گروه شاهد یافت ( $P=0/0014$ ) و تیمار با روغن ماهی در طی دوران بارداری باعث افزایش تعداد بلند شدن روی دو پا در گروه هیپوکسی / روغن ماهی در مقایسه با گروه هیپوکسی شد ( $P=0/0110$ ) (نمودار شماره ۳).

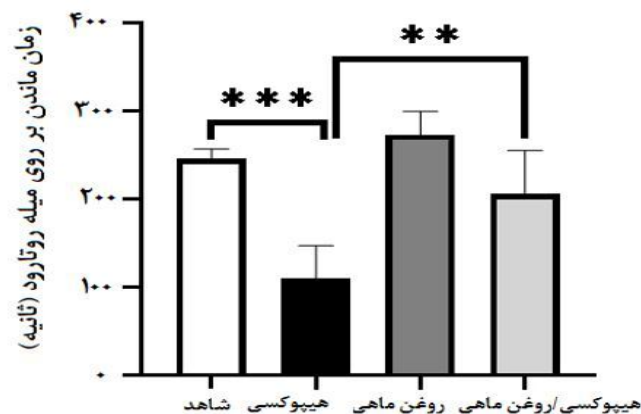
میانگین تعداد بلند شدن روی دو پا در گروه شاهد، هیپوکسی و در گروه دریافت کننده روغن ماهی به ترتیب  $17 \pm 1/48$ ،  $8 \pm 0/6$  و  $18/85 \pm 1/58$ ،  $8/28$  ماهی  $13/15 \pm 1/31$  بود. همان طور که نمودار ۳ نشان می دهد، تعداد بلند شدن روی دو پا در گروه هیپوکسی کاهش معنی داری



نمودار شماره ۳- مقایسه میانگین تعداد بلند شدن روی دو پا در آزمون جعبه باز. (نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار نشان داده شده اند. \* و \*\* به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح ( $P < 0/01$ ) و ( $P < 0/05$ ) را نشان می دهند ( $n=8$ ). آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و پس آزمون توکی.)

روتارود، بیانگر کاهش معنی دار زمان تعادل در گروه هیپوکسی نسبت به گروه شاهد بود ( $P=0/0001$ ). در گروه هیپوکسی تیمار شده با روغن ماهی نیز مدت زمان تعادل بر روی میله دستگاه روتارود نسبت به گروه هیپوکسی افزایش معنی داری یافت ( $P=0/003$ ) (نمودار شماره ۴).

جهت اندازه گیری تعادل حرکتی از دستگاه روتارود استفاده شد و در گروه شاهد، هیپوکسی و دریافت کننده روغن ماهی به ترتیب  $4/18 \pm 245/67$ ،  $7/63 \pm 116/18$ ،  $14/41 \pm 261/57$  ثانیه و در گروه هیپوکسی دریافت کننده روغن ماهی  $15/78 \pm 210/37$  ثانیه به دست آمد. مقایسه میانگین مدت زمان ماندن بر روی میله دستگاه



نمودار شماره ۴- مدت زمان ماندن بر روی میله گرد. \* و \*\*\* تفاوت معنی دار را در سطح  $P < 0/01$  و  $P < 0/001$  نشان می دهند. داده ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار نشان داده شده اند ( $n=8$ ). آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و پس آزمون توکی

شده است. در این بخش نتایج، مقایسه بین گروه ها با گروه شاهد انجام شده است.

نتایج مربوط به تغییرات شاخص های استرس اکسیداتیو در سرم مادران و زاده های ۳۰ روزه در جدول های شماره های ۱ تا ۴ ارائه

فعالیت کاتالاز (CAT)

بین سایر گروه‌ها با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول شماره ۱). در زاده‌های ۳۰ روزه نیز فعالیت کاتالاز در گروه هیپوکسی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت ( $P=0/0460$ ).

طبق نتایج به‌دست‌آمده میانگین فعالیت کاتالاز در سرم مادران ۱۵ روزه و ۲۰ روزه گروه هیپوکسی به ترتیب ( $P=0/0133$ ) و ( $P=0/0026$ ) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد یافت. اما

جدول شماره ۱- مقایسه فعالیت کاتالاز (IU/mg protein) در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	روز ۱۵ بارداری	روز ۲۰ بارداری	روز ۳۰ بعد از تولد
شاهد	$30/34 \pm 4/8$	$34/15 \pm 1/82$	$34/5 \pm 2/86$
هیپوکسی	$21/93 \pm 2/06^{\circ}$	$20/81 \pm 1/05^{\circ\circ}$	$24/48 \pm 1/4^{\circ}$
روغن ماهی	$33/66 \pm 1/2$	$35/53 \pm 3/27$	$37/89 \pm 0/21$
هیپوکسی / روغن ماهی	$30/02 \pm 1/7$	$32/9 \pm 5/02$	$38/49 \pm 4/1$

\* و \*\* اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/05$  و  $P < 0/01$  را در گروه هیپوکسی نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهند. نتایج به‌صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار نشان داده شده‌اند. ( $n=5$ ). آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی.

فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPx)

۲۰ بارداری ( $P=0/0235$ ) و نمونه‌های سرم‌زاده‌های ۳۰ روزه ( $P=0/0335$ ) نیز کاهش معنی‌داری در میانگین فعالیت آنزیم GPx گروه هیپوکسی نسبت به گروه شاهد مشاهده شد؛ درحالی‌که در گروهی که با روغن ماهی تیمار شده بودند، نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول شماره ۲).

میانگین فعالیت آنزیم GPx در روز ۱۵ بارداری گروه هیپوکسی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت ( $P=0/0085$ ) و در گروهی که روغن ماهی را همزمان با اعمال هیپوکسی دریافت کرده بودند، فعالیت این آنزیم افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان نداد. در نمونه‌های روز

جدول شماره ۲- مقایسه فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز (IU/mg protein) در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	روز ۱۵ بارداری	روز ۲۰ بارداری	روز ۳۰ بعد از تولد
شاهد	$28/00 \pm 2/33$	$29/66 \pm 1/21$	$30/1 \pm 28/23$
هیپوکسی	$20/3 \pm 3/37^{\circ\circ}$	$24/44 \pm 1/05^{\circ}$	$23/50 \pm 3/28^{\circ}$
روغن ماهی	$31/56 \pm 3/5$	$33/31 \pm 1/92$	$34/77 \pm 1/84$
هیپوکسی / روغن ماهی	$30/20 \pm 1/9$	$29/91 \pm 2/95$	$29/76 \pm 2/54$

\*\* و \*\*\* اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/01$  را بین گروه‌های هیپوکسی نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهند. نتایج به‌صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار نشان داده شده‌اند ( $n=5$ ). آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

آن‌ها در طی بارداری تحت اعمال هیپوکسی قرار گرفته بودند، نیز نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری ( $P=0/0014$ ) نشان داد. بین سایر گروه‌ها با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول شماره ۳).

میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در هر دو بازه زمانی نمونه‌گیری از سرم مادران تحت تأثیر هیپوکسی (روز ۱۵ و ۲۰ بارداری) ( $P=0/039$ ) نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت و در سرم زاده‌های ۳۰ روزه که مادران

جدول شماره ۳- مقایسه فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (IU/mg protein) در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	روز ۱۵ بارداری	روز ۲۰ بارداری	روز ۳۰ بعد از تولد
شاهد	$2/41 \pm 0/05$	$2/61 \pm 0/03$	$2/81 \pm 0/003$
هیپوکسی	$2/04 \pm 0/09^{\circ}$	$2/12 \pm 0/07^{\circ}$	$2/28 \pm 0/04^{\circ\circ}$
روغن ماهی	$2/53 \pm 0/03$	$2/53 \pm 0/05$	$2/73 \pm 0/01$
هیپوکسی / روغن ماهی	$2/44 \pm 0/01$	$2/67 \pm 0/01$	$2/83 \pm 0/03$

\*\* و \*\*\* اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0/05$  و  $P < 0/01$  نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهند. نتایج به‌صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار نشان داده شده‌اند ( $n=5$ ). آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی.

یافت و افزایش میزان اکسیداسیون لیپیدی در نمونه‌های سرم روز ۲۰ بارداری گروه هیپوکسی نسبت به گروه شاهد نیز معنی‌دار بود ( $P=0/0423$ ). بین سایر گروه‌ها با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول شماره ۴).

اکسیداسیون لیپیدی در نمونه‌های روز ۱۵ بارداری ( $P=0/0039$ ) و زاده‌های ۳۰ روزه ( $P=0/0015$ ) گروه دریافت‌کننده هیپوکسی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری

جدول شماره ۴- مقایسه میزان اکسیداسیون لیپیدی (nmol/mg protein) در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	روز ۱۵ام بارداری	روز ۲۰ام بارداری	روز ۳۰ام بعد از تولد
شاهد	۱/۱۶ ± ۰/۰۵	۱/۴۳ ± ۰/۰۸	۱/۲۴ ± ۰/۰۵
هیپوکسی	۱/۹۵ ± ۰/۰۷ <sup>oo</sup>	۱/۸۱ ± ۰/۰۳ <sup>o</sup>	۲/۱۴ ± ۰/۰۶ <sup>oo</sup>
روغن ماهی	۰/۹۹ ± ۰/۰۲	۰/۹۸ ± ۰/۰۸	۱/۱۲ ± ۰/۰۹
هیپوکسی / روغن ماهی	۱/۶۶ ± ۰/۰۹	۱/۲۲ ± ۰/۰۲	۱/۸۴ ± ۰/۰۱

\*و\*\* اختلاف معنی‌دار در سطح  $P<0/01$  و  $P<0/05$  را نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهند. نتایج به‌صورت میانگین ± خطای معیار نشان داده شده‌اند. (n=5). آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی

## بحث

در این مطالعه فعالیت حرکتی و تعادل در گروه هیپوکسی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت. در راستای این نتایج مطالعات پیشین نشان داده‌اند که یکی از عوارض مهم هیپوکسی بارداری در درازمدت، اختلال در سیستم حسی - حرکتی است. در آزمون جعبه باز میانگین کل مسافت پیموده‌شده و سرعت حرکت نشان‌دهنده‌ی عملکرد حرکتی حیوان است. در ارتباط با تأثیر هیپوکسی بر فعالیت حرکتی و تعادل، گزارشات متناقضی وجود دارد. به‌طوری‌که Lubics و همکاران در بررسی اثر ایسکمی / هیپوکسی بر عملکرد حرکتی موش‌های ۷ روزه مشاهده نمودند که مسافت طی‌شده، زمان سپری‌شده در گوشه‌ها، دیوارها و سرعت حرکت در آزمون جعبه باز در گروه هیپوکسی نسبت به گروه کنترل بیشتر بوده است [۱۶]. درحالی‌که Ireland و همکاران نشان دادند که هیپوکسی حاد کوتاه‌مدت در دوران بارداری به‌طور معنی‌داری باعث کاهش مدت‌زمان ماندن بر روی میله گرد در آزمون روتارود زاده‌های دریافت‌کننده هیپوکسی نسبت به گروه کنترل شد. در آزمون جعبه باز نیز میانگین مسافت طی‌شده در گروه هیپوکسی در مقایسه با گروه کنترل تقریباً ۵۰ درصد کمتر بود [۱۷]. همچنین Durán-Carabali و همکاران نشان دادند که هیپوکسی در موش‌های تازه متولدشده باعث اختلال عملکرد حرکتی و تغییر مورفولوژی عضله می‌شود [۱۸]. جسم مخطط از ساختارهای مهم مغزی است که در ارتباط با کنترل حرکت است و به‌شدت تحت تأثیر هیپوکسی قرار می‌گیرد. بررسی‌ها نشان می‌دهند که حجم جسم مخطط بعد از هیپوکسی تا ۵۰ درصد کاهش می‌یابد. این ساختار مهم مغزی باعث تعدیل پاسخ به نواحی حرکتی دیگر مغز نظیر کورتکس می‌شود [۱۹].

یک ارتباط مثبت بین حجم جسم مخطط (Striatum) و اختلال حرکت وجود دارد. شواهد آزمایشگاهی بر شکل‌گیری شبکه‌ی نورونی جسم مخطط که مسؤول شروع و کنترل حرکت است، در ابتدای تولد اشاره دارند. همچنین تکامل ساختارها و مسیرهای حرکتی نیز به موازات فعالیت شبکه نورونی جسم مخطط صورت می‌گیرد [۲۰]. شواهد کلینیکی نیز به نقص سیستم حسی - حرکتی بعد از هیپوکسی اشاره دارند [۱۸]. مکانیسم احتمالی برای کاهش حجم نواحی مهم مرتبط با کنترل حرکت به‌دنبال هیپوکسی، افزایش رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو است. با اندازه‌گیری پارامترهای استرس اکسیداتیو در سرم مادران و زاده‌ها نتایج این تحقیق نیز بیانگر افزایش معنی‌دار استرس اکسیداتیو در گروه هیپوکسی نسبت به گروه شاهد بود. در این راستا مطالعات Li و همکاران نشان داد که هیپوکسی متناوب در موش‌های آزمایشگاهی باعث افزایش بیان و فعالیت iNOS در بافت مغز شده، با افزایش تولید نیتریک اکسید روند تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد [۲۱]. مطالعات Sab و همکاران نیز بیانگر افزایش استرس اکسیداتیو، افزایش تولید نیتریک اکسید و اختلال در فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز در موش‌های بالغی است که مادران آن‌ها در معرض هیپوکسی بارداری بودند [۲۲]. کاهش اکسیژن با کاهش میزان ATP، تغییر در متابولیسم بی‌هوازی، تجمع لاکتیک‌اسید و اختلال در پمپ سدیم - پتاسیم وابسته به ATP، باعث افزایش میزان نوروترانسمیترهای تحریکی و تورم سلول می‌شود. در فاز بعدی با اختلال در عملکرد میتوکندری، افزایش رادیکال‌های آزاد و افزایش غلظت کلسیم داخل‌سلولی، التهاب رخ می‌دهد. در فاز آخر که روزها یا حتی ماه‌ها بعد از هیپوکسی رخ می‌دهد، میزان التهاب مزمن افزایش می‌یابد و



سلول‌ها را از آسیب اکسیداتیو القاشده با  $H_2O_2$  محافظت می‌کند و باعث کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود [۲۷]. Iraz و همکاران نیز به بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی روغن ماهی پرداختند و نتایج آن‌ها نشان داد که روغن ماهی با داشتن اسیدهای چرب امگا ۳ نظیر ایکوزاپنتانویک اسید و ایکوزاهگزانویک اسید خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد و مصرف آن در موش صحرایی باعث کاهش فعالیت مالون‌دی‌آلدنید در گروه درمان نسبت به گروه کنترل شد [۱۰]. با توجه به این‌که نتایج ما مکانیسم آنتی‌اکسیدانی مصرف روغن ماهی را در بهبود پاسخ‌های حرکتی ناشی از اعمال هیپوکسی بارداری نشان داد، پیشنهاد می‌شود که پاسخ‌های التهابی و مکانیسم مولکولی بیان ژن‌های مرتبط با حرکت نیز در مخچه بررسی شود.

#### نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که هیپوکسی مزمن بارداری با افزایش استرس اکسیداتیو، منجر به اختلال حرکت در زاده‌ها می‌شود و تیمار با روغن ماهی همزمان با اعمال هیپوکسی مزمن بارداری با کاهش استرس اکسیداتیو از اختلال حرکتی زاده‌ها جلوگیری می‌کند.

#### تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز در قالب پژوهانه در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

#### References:

- [1] Warner MJ, Ozanne SE. Mechanisms involved in the developmental programming of adulthood disease. *Biochem J* 2010; 427(3): 333-47.
- [2] Dudley KJ, Li X, Kobor MS, Kippin TE, Bredy TW. Epigenetic mechanisms mediating vulnerability and resilience to psychiatric disorders. *Neurosci Biobehav Rev* 2011; 35(7): 1544-51.
- [3] Ferrari DC, Nestic OB, Perez-Polo JR. Oxygen resuscitation does not ameliorate neonatal hypoxia/ischemia-induced cerebral edema. *J Neurosci Res* 2010; 88(9): 2056-65.
- [4] Getahun D, Rhoads GG, Demissie K, Lu SE, Quinn VP, Fassett MJ, et al. In utero exposure to ischemic-hypoxic conditions and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Pediatrics* 2013; 131(1): 53-61.
- [5] Yang SH, Gangidine M, Pritts TA, Goodman MD, Lentsch AB. Interleukin 6 mediates neuroinflammation and motor coordination deficits

نوروژنز و سیناپتوژنز کاهش یافته، منجر به مرگ نورون‌های مغزی می‌شود که مرگ نورون‌ها در نواحی دخیل در کنترل حرکت منجر به اختلال حرکتی در درازمدت می‌گردد [۲۳]. همان‌طور که اشاره شد، مکانیسم احتمالی برای اختلال حرکت ناشی از هیپوکسی، افزایش استرس اکسیداتیو است؛ بنابراین کاربرد ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیر روغن ماهی می‌تواند در بهبود فعالیت حرکتی به دنبال هیپوکسی مفید باشد. در این پژوهش هم تیمار با روغن ماهی در طی اعمال هیپوکسی مزمن بارداری باعث افزایش فعالیت حرکتی، بهبود تعادل و کاهش استرس اکسیداتیو در سرم مادران و زاده‌ها شد. دوکوزاهگزانویک اسید (DHA)، چربی امگا ۳ غالب در غشای سلول‌های عصبی به‌ویژه ناحیه خاکستری مغز است و در عملکردهای مغزی نظیر سیالیت غشا، توانایی اتصال رسپتور و تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با انتقال سیگنال عصبی نقش دارد. مطالعات آزمایشگاهی و بالینی نشان می‌دهند که مصرف روغن ماهی با داشتن اسیدهای چرب غیراشباع از جمله DHA طی دوران بارداری اثر مهمی بر رشد جنین و تکامل ساختارهای مغزی دارد [۲۴]. مکانیسم احتمالی برای اثر محافظتی روغن ماهی در مقابل هیپوکسی، کاهش استرس اکسیداتیو است [۲۵]. نتایج تحقیق ما نیز نشان می‌دهد که تیمار با روغن ماهی باعث کاهش استرس اکسیداتیو در گروه هیپوکسی نسبت به گروه شاهد و در گروه تیمار شده نسبت به گروه هیپوکسی شد. در مطالعه‌ی دیگری مشخص شد که استرس اکسیداتیو به‌دنبال ضربه‌های مغزی افزایش می‌یابد و روغن ماهی باعث کاهش استرس اکسیداتیو ایجادشده به‌دنبال ضربه مغزی در موش صحرایی می‌شود [۲۶]. همچنین مشخص شده که پیش‌درمانی با دوکوزاهگزانویک اسید،

- after mild traumatic brain injury and brief hypoxia in mice. *Shock* 2013; 40(6): 471-75.
- [6] Xu K, Sun X, Erokwu BO, Cernak I, LaManna JC. A heat-shock protein co-inducer treatment improves behavioral performance in rats exposed to hypoxia. *Adv Exp Med Biol* 2011; 313-18.
  - [7] Fuhrmann DC, Brüne B. Mitochondrial composition and function under the control of hypoxia. *Redox Biol* 2017; 12(1): 208-15.
  - [8] Thakor AS, Herrera EA, Serón-Ferré M, Giussani DA. Melatonin and vitamin C increase umbilical blood flow via nitric oxide-dependent mechanisms. *J Pineal Res* 2010; 49(4): 399-406.
  - [9] Joshi KS. Docosahexaenoic acid content is significantly higher in ghrita prepared by traditional Ayurvedic method. *J Ayurveda Integr Med* 2014; 5(2): 85.
  - [10] Iraz M, Erdogan H, Ozyurt B, Ozugurlu F, Ozgocmen S, Fadillioglu E. Omega-3 essential fatty acid supplementation and erythrocyte

- oxidant/antioxidant status in rats. *Ann Clin Lab Sci* 2005; 35(2): 169-73.
- [11] Jang EA, Longo LD, Goyal R. Antenatal maternal hypoxia: criterion for fetal growth restriction in rodents. *Front Physiol* 2015; 176(6): 1-6.
- [12] Albert BB, Vickers MH, Gray C, Reynolds CM, Segovia SA, Derraik JG, et al. Fish oil supplementation to rats fed high-fat diet during pregnancy prevents development of impaired insulin sensitivity in male adult offspring. *Scientific Reports* 2017; 7(1): 1-11.
- [13] Ghotbeddin Z, Tabandeh MR, Borujeni MP, Truski FF, Tabrizian L. Study the effect of crocin in three maternal hypoxia protocols with different oxygen intensities on motor activity and balance in rat offspring. *Acta Neurol Belg* 2020; 120(1): 155-61.
- [14] Heidarinazhad S, Mahabady MK, Ranjbar R, Varzi HN, Mohammadian B, Tabandeh MR. Effect of maternal diabetes and quercetin exposure on the oxidative stress and kidney damage in rat's fetus. *Trop J Pharm Res* 2018; 17(7): 1325-30.
- [15] Majd NE, Sadeghi N, Tavalae M, Tabandeh MR, Nasr-Esfahani MH. Evaluation of oxidative stress in testis and sperm of rat following induced varicocele. *Urol J* 2019; 16(3): 300-6.
- [16] Lubics A, Reglödi D, Tamás A, Kiss P, Szalai M, Szalontay L, et al. Neurological reflexes and early motor behavior in rats subjected to neonatal hypoxic-ischemic injury. *Behav Brain Res* 2005; 157(1): 157-65.
- [17] Ireland Z, Dickinson H, Fleiss B, Hutton LC, Walker DW. Behavioural effects of near-term acute fetal hypoxia in a small precocial animal, the spiny mouse (*Acomys cahirinus*). *Neonatal* 2010; 97(1): 45-51.
- [18] Durán-Carabali LE, Sanches EF, Marques MR, Aristimunha D, Pagnussat A, Netto CA. Longer hypoxia-ischemia periods to neonatal rats causes motor impairments and muscular changes. *Neurosci* 2017; 340(6): 291-98.
- [19] Hobbs CE, Oorschot DE. Neonatal rat hypoxia-ischemia: long-term rescue of striatal neurons and motor skills by combined antioxidant-hypothermia treatment. *Brain Pathol* 2008; 18(3): 443-54.
- [20] Dehorter N, Michel FJ, Marissal T, Rotrou Y, Matrot B, Lopez C, et al. Onset of pup locomotion coincides with loss of NR2C/D-mediated corticostriatal EPSCs and dampening of striatal network immature activity. *Front Cell Neurosci* 2011; 24(5): 1-14.
- [21] Li J, Zhang X, Sejas DP, Bagby GC, Pang Q. Hypoxia-induced nucleophosmin protects cell death through inhibition of p53. *J Biol Chem* 2004; 279(40): 41275-79.
- [22] Sab IM, Ferraz MM, Amaral TA, Resende AC, Ferraz MR, Matsuura C, et al. Prenatal hypoxia, habituation memory and oxidative stress. *Pharm Biochem Behav* 2013; 107(1): 24-8.
- [23] Arteaga O, Álvarez A, Revuelta M, Santaolalla F, Urtasun A, Hilario E. Role of antioxidants in neonatal hypoxic-ischemic brain injury: new therapeutic approaches. *Int J Mol Sci* 2017; 18(2): 1-22.
- [24] Daniels JL, Longnecker MP, Rowland AS, Golding J. Fish intake during pregnancy and early cognitive development of offspring. *Epidemiol* 2004; 15(4): 394-402.
- [25] Jump DB. Fatty acid regulation of gene transcription. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2004; 41(1): 41-78.
- [26] Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Dietary omega-3 fatty acids normalize BDNF levels, reduce oxidative damage, and counteract learning disability after traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma* 2004; 1(10): 1457-67.
- [27] Clementi ME, Lazzarino G, Sampaiolese B, Brancato A, Tringali G. DHA protects PC12 cells against oxidative stress and apoptotic signals through the activation of the NFE2L2/HO-1 axis. *Int J Mol Sci* 2019; 43(6): 2523-31.