

## Effect of Seizure During Pregnancy on Pentylenetetrazol-Induced Seizure-Like Behavior and Serum GDNF Levels in Adult Male Mice Offspring

Ayoob Sabaghi<sup>1</sup>, Ali Heyrani<sup>1\*</sup>, Amir Kiani<sup>2</sup>, Namdar Yousofvand<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran

<sup>2</sup>Faculty of Pharmacology, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

<sup>3</sup>Faculty of Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran

Received: 10 Jun 2018

Article Info:

Accepted: 19 Nov 2018

### ABSTRACT

**Introduction:** Epilepsy is a neurodevelopmental disorder and prenatal factors exert a profound influence on the development of the nervous system in the offspring. Therefore, this study was designed to investigate the effect of seizure during pregnancy on pentylenetetrazol (PTZ)-induced seizure-like behavior in adult male mice offspring. **Materials and Methods:** After pregnancy, mice were classified as: i) naive group; ii) seizure group, induction of seizure between the fourteenth and nineteenth days of pregnancy by application of PTZ; iii) sham group, received normal saline intraperitoneally during the fourteenth and nineteenth days of pregnancy; and iv) control group, pregnant mice without injection during pregnancy. At postnatal day 95, serum glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF) levels and seizure susceptibility to PTZ in male offspring of all groups were evaluated. **Results:** The results showed that serum GDNF levels and seizure severity of offspring of mice in the seizure group were significantly higher than male offspring in the other group. **Conclusion:** The present findings showed that seizure during pregnancy may enhance seizure susceptibility in adult male offspring, possibly via increasing serum GDNF.

### Key words:

1. Seizures
2. Pregnancy
3. Mice
4. Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor

\*Corresponding Author: Ali Heyrani

E-mail: [iliaheirani2004@gmail.com](mailto:iliaheirani2004@gmail.com)

## تأثیر تشنج در دوران بارداری بر رفتار تشنجی القا شده با پنتیلن تتراوزل و سطوح سرمی GDNF در زاده‌های نر بزرگسال موش سوری

ایوب صباغی<sup>۱</sup>، علی حیرانی<sup>۱\*</sup>، امیر کیانی<sup>۲</sup>، نامدار یوسفوند<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

<sup>۲</sup>دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

<sup>۳</sup>دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

### اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۲۸ آبان ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: ۲۰ خرداد ۱۳۹۷

### چکیده

**مقدمه:** صرع یک اختلال عصبی-رشدی است و فاکتورهای قبل از تولد تأثیر قابل توجهی بر رشد سیستم عصبی در موالید دارند. بنابراین تحقیق حاضر به بررسی تأثیر تشنج در دوران بارداری بر رفتار تشنجی القا شده با پنتیلن تتراوزل در زاده‌های نر بزرگسال طراحی شد. **مواد و روش‌ها:** پس از بارداری موش‌ها به صورت: الف- گروه کنترل منفی ب- گروه تشنج، القای تشنج بین روزهای چهاردهم تا نوزدهم بارداری با تزریق پنتیلن تتراوزل ج- گروه شم، دریافت‌کننده نرمال سالین به صورت درون صفاقی در روزهای چهاردهم تا نوزدهم بارداری و د- گروه کنترل، موش‌های باردار بدون تزریق در طی بارداری طبقه‌بندی شدند. در روز ۹۵ پس از تولد، سطوح سرمی فاکتور نوروتروفیک مشتق از گلیا و پتانسیل تشنج‌پذیری با پنتیلن تتراوزل در زاده‌های نر همه گروه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد که سطوح سرمی فاکتور نوروتروفیک مشتق از گلیا و شدت تشنج زاده‌های موش سوری در گروه تشنج به صورت معنی‌داری از زاده‌های نر در سایر گروه‌ها بیشتر می‌باشد. **نتیجه‌گیری:** یافته‌های حاضر نشان داد که تشنج در دوران بارداری ممکن است به واسطه افزایش سطوح سرمی فاکتور نوروتروفیک مشتق از گلیا سبب افزایش پتانسیل تشنج‌پذیری در زاده‌های نر بزرگسال شود.

### کلید واژه‌ها:

۱. تشنج
۲. بارداری
۳. موش سوری
۴. فاکتور نوروتروفیک مشتق از سلول گلیا

\* نویسنده مسئول: علی حیرانی

آدرس الکترونیکی: [iliaheirani2004@gmail.com](mailto:iliaheirani2004@gmail.com)

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده که به صورت آزمایشگاهی در سال ۹۷-۱۳۹۶ در دانشکده علوم دانشگاه رازی کرمانشاه انجام شد. در این مطالعه کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی بود.

### حیوانات مورد آزمایش

موش‌های ماده و نر نژاد ICR (در سن ۸ هفتگی) از لابراتوار مرکز حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه ایران خریداری شدند. حیوانات در قفس استاندارد پلی‌کربناتی در اتاقی با دمای کنترل شده با چرخه ثابت ۱۲ ساعت تاریکی روشنایی (۲۰ شب - ۸ صبح) و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. این شرایط به‌عنوان یک شرایط مناسب در همه مراحل آزمایشگاهی در نظر گرفته شده است.

### فرایند کیندل کردن

فرایند کیندل کردن موش‌های ماده بر اساس پروتکل مطالعه صباغی و همکاران انجام شد. به طور خلاصه موش‌های ماده، ۱۳ بار با تزریق درون صفاقی PTZ کیندل شده و موش‌هایی که به‌عنوان فول کیندل شده انتخاب شدند وارد مرحله بارداری شدند (۲۷).

### گروه‌های آزمایشی

در نهایت ۳۲ موش کیندل شده وارد مرحله بارداری شدند و در گروه‌های الف- گروه القای تشنج در بارداری در روزهای چهاردهم تا نوزدهم بارداری و هر ۴۸ ساعت یکبار (۲۷-۱۲) سر موش، ب- گروه تحت درمان با نرمال سالین (۱۰ سر موش)، ج- گروه کنترل (بدون تزریق در بارداری؛ ۱۰ سر موش) قرار داده شدند. یک گروه نیز به‌عنوان د- گروه کنترل منفی (کیندل نشده و بدون تزریق در بارداری؛ ۱۰ سر موش) به طرح تحقیق اضافه شد.

### اندازه‌گیری سطوح سرمی GDNF

برای اندازه‌گیری سطوح GDNF پایه در روز ۹۵ پس از تولد که به‌عنوان دوره بزرگسالی در موش‌ها در نظر گرفته می‌شود (۲۸) زاده‌های نر با اتر بیهوش شده و بعد از برش شکم بلافاصله خون قلب آن‌ها گرفته شد. نمونه‌های خونی جمع‌آوری شده به مدت ۱۵ دقیقه و با قدرت نسبی ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سرم خون جمع‌آوری شده از نمونه‌ها برای اندازه‌گیری‌های بعدی در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند و پس از آن نمونه‌های سرم آماده شده با کیت الیزا (ZellBio GmbH- Germany) و بر اساس دستورالعمل

در طی بارداری رشد سیستم عصبی مرکزی جنین به تعامل بین فاکتورهای ژنتیکی و محیطی وابسته است (۱). شواهد رو به رشدی وجود دارد که در معرض قرار گرفتن جنین در مقابل محرک‌های استرس ممکن است تأثیرات عمیق و دایمی بر مغز و رفتار زاده‌ها داشته باشد (۵-۲). مشاهده شده است که پتانسیل تشنج در میان زاده‌های متولد شده از مادران مبتلا به صرع بیشتر از زاده‌های متولد شده از مادران سالم می‌باشد (۸-۶). پیشنهاد شده است که نرخ زیاد زاده‌های مبتلا به صرع از مادران مبتلا به صرع ممکن است ناشی از تشنج در دوران بارداری یا دیگر فاکتورهای سمی مربوط به تشنج باشد که می‌تواند بر رشد جنین تأثیرات نامطلوب بگذارد (۹). با این وجود در تنها مطالعه تجربی انجام شده توسط Holmes and Weber تأثیرات تشنج بر پتانسیل تشنج‌پذیری زاده‌ها مشاهده نشد (۱۰).

از سوی دیگر پاسخ ایمنی بیش از حد و عدم تعادل در انتقال‌دهنده‌های سیناپتیکی به دنبال تشنج اتفاق می‌افتد (۱۱). شواهد محکم دیگری نیز پاسخ ایمنی فعال شده در افراد مبتلا به صرع را نشان داده‌اند (۱۳، ۱۲). مشاهده شده است که فعالسازی ایمنی در بارداری سبب افزایش پتانسیل تشنج‌پذیری در زاده‌ها می‌شود (۱۶-۱۴). به نظر می‌رسد که این افزایش در پتانسیل تشنج‌پذیری ناشی از افزایش سایتوکین‌های پیش‌تهابی در زاده‌ها در اثر فعالسازی ایمنی در بارداری باشد (۱۹-۱۷) چرا که نقش سایتوکین‌های پیش‌تهابی در افزایش تشنج گزارش شده است (۲۱، ۲۰). به‌علاوه سایتوکین‌های پیش‌تهابی سبب افزایش سطوح فاکتور رشد عصبی مشتق از گلیا (GDNF)<sup>۲</sup> شده و رابطه مستقیمی بین سطوح فاکتورهای التهابی و GDNF مشاهده شده است (۲۴-۲۲). با این وجود تزریق درون هیپوکامپی GDNF، هفت روز (۲۵) و ده روز (۲۶) قبل از القای تشنج سبب کاهش شدت تشنج شده است.

با توجه به اینکه تشنج سبب فعالسازی ایمنی شده و تأثیرات آن در بارداری بر افزایش پتانسیل تشنج‌پذیری زاده‌ها که یکی از دلایل آن می‌تواند مرتبط با بالا بودن فاکتورهای التهابی در این دسته از موالید باشد مشاهده شده است و همچنین وجود رابطه مستقیم بین سطوح فاکتورهای التهابی و GDNF و تأثیر این فاکتور نوروتروفیکی بر کاهش شدت تشنج به نظر می‌رسد که این نتایج تا حدودی متناقض بوده و می‌تواند یک موضوع جالب توجه برای بررسی‌های بیشتر باشد. بنابراین تحقیق حاضر جهت بررسی تأثیر تشنج در دوران بارداری بر پتانسیل تشنج‌پذیری زاده‌های نر با تاکید بر سطوح سرمی GDNF طراحی شد.

<sup>1</sup> Exaggerated immune response

<sup>2</sup> Glial cell-derived neurotrophic factor

کمپانی اندازه‌گیری شد.

## آزمون پتانسیل تشنج‌پذیری

آزمون پتانسیل تشنج‌پذیری نیز بر روی ۱۰ موش نر از هر گروه در روز ۹۵ پس از تولد انجام گرفت و میزان ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم PTZ به صورت درون صفاقی به آنان تزریق شد. حیوانات ۳۰ دقیقه پس از تزریق مشاهده شدند و امتیاز تشنجی زاده‌های نر بر اساس روش پنج نمره‌ای باکر ارزیابی شدند (۲۹): مرحلهٔ صفر: بدون پاسخ، مرحلهٔ ۱: انقباضات عضلات صورت و گوش‌ها، مرحلهٔ ۲: پرش‌های میوکلونیک بدون بلند شدن روی دو پا، مرحلهٔ ۳: پرش‌های میوکلونیک و ایستادن روی دو پا، مرحلهٔ ۴: حملات تونیک-کلونیک و افتادن به پهلو و مرحلهٔ ۵: افتادن به پشت و حملات تونیک-کلونیک عمومی.<sup>۸</sup>

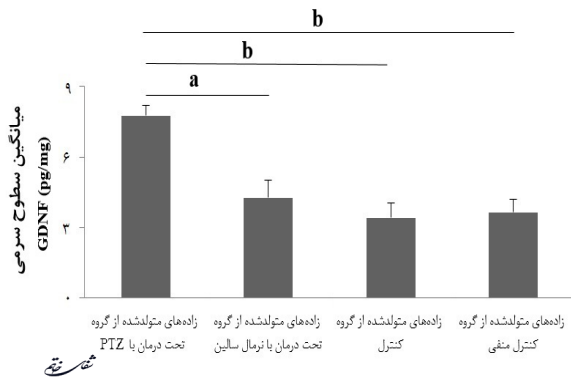
## آنالیز آماری

نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ برای تحلیل آماری مورد استفاده قرار گرفت. داده‌ها بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار برای هر گروه بیان شدند. به‌منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. پتانسیل تشنج‌پذیری (امتیاز فعالیت تشنجی) در زاده‌ها به دنبال تزریق PTZ، با استفاده از آزمون کروسکال والیس (ناپارامتریک) با آزمون تعقیبی بونفرونی مقایسه شد. همچنین ارزیابی سطوح سرمی GDNF با استفاده از آزمون آنوای یکطرفه با تست تعقیبی توکی انجام شد. در تمامی بررسی‌ها  $P < 0.05$  به‌عنوان حداقل سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

## تأثیر تشنج در دوران بارداری بر سطوح سرمی GDNF

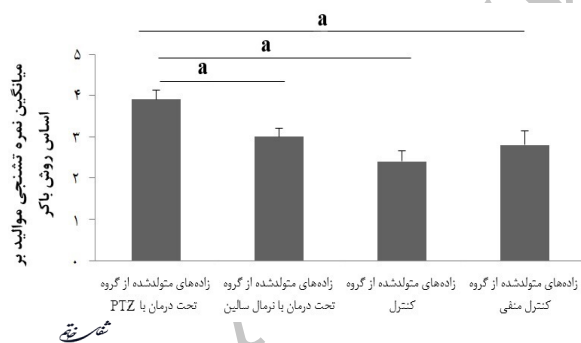
همان‌گونه که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود میزان سطوح سرمی GDNF در زاده‌های نر متولد شده از موش‌های تحت درمان با PTZ در دوران بارداری بیشتر از زاده‌های نر گروه‌های دیگر می‌باشد. با استفاده از آزمون آنوای یکطرفه ( $P < 0.0001$ ,  $F = 11.408$ ) مشخص شد که اثر گروه معنی‌دار می‌باشد. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که میزان سطوح سرمی GDNF در زاده‌های نر گروه موش‌های باردار تحت درمان با PTZ دارای اختلاف معنی‌داری با زاده‌های نر گروه‌های دیگر می‌باشند و این اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ )، در صورتی که این اختلاف در میان زاده‌های نر متولد شده از گروه‌های موش‌های باردار تحت درمان با نرمال سالین، کنترل و کنترل منفی، معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ).



نمودار ۱- تأثیرات تشنج بر سطوح سرمی GDNF در زاده‌های نر بزرگسال. گزارش نتایج بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار.  $P < 0.05$  و  $P < 0.0001$  در مقابل زاده‌های گروه تحت درمان با PTZ در دوران بارداری.

## تأثیر تشنج در دوران بارداری بر پتانسیل تشنج‌پذیری مولید

نتایج آزمون کروسکال والیس در بررسی تأثیر تشنج در دوران بارداری بر پتانسیل تشنج‌پذیری زاده‌های نر معنی‌دار بود ( $P = 0.005$ ,  $\chi^2 = 12.672$ ). با استفاده از تست تعقیبی بونفرونی مشاهده شد که میانگین امتیاز تشنجی در زاده‌های نر متولد شده از گروه موش‌های باردار دریافت‌کننده PTZ دارای اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها بود ( $P < 0.05$ ) که نتایج آن در نمودار ۲ مشاهده می‌شود. در این مرحله نیز میانگین نمرهٔ فعالیت تشنجی در میان زاده‌های نر گروه‌های تحت درمان با نرمال سالین، کنترل و کنترل منفی تفاوت معنی‌دار آماری با یکدیگر نداشتند ( $P > 0.05$ ).



نمودار ۲- میانگین نمرهٔ تشنجی پس از تزریق PTZ در زاده‌های نر بزرگسال. گزارش نتایج بر اساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار.  $P < 0.05$  در مقابل زاده‌های گروه تحت درمان با PTZ در دوران بارداری.

## بحث و نتیجه‌گیری

در معرض قرار گرفتن تشنج در دوران بارداری یک فاکتور مداخله‌گر مهم برای نتایج نامطلوب نورولوژیکی در دوره‌های بعدی زندگی می‌باشد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تشنج در دوران بارداری به‌طور معنی‌داری سبب افزایش سطوح GDNF و پتانسیل تشنج‌پذیری در زاده‌های نر بزرگسال می‌شود.

<sup>3</sup> No response

<sup>4</sup> Ear and facial twitching

<sup>5</sup> Myoclonic jerks without rearing

<sup>6</sup> Myoclonic jerks, rearing

<sup>7</sup> Turn over into side position, clonic-tonic seizures

<sup>8</sup> Turn over into back position, generalized clonic-tonic seizures

مغز را بالا می‌برند (۴۸). افزایش سطوح خارج سلولی گلوتامات در قسمت‌های مختلف مغز در افراد مبتلا به صرع و مدل‌های حیوانی اپی‌لپتیکی گزارش شده است (۴۹، ۵۰). به علاوه Hoerbelt و همکاران نیز نشان دادند که دوپامین سبب بازداری گیرنده‌های GABAA می‌شود (۵۱). این در حالی است که یکی از مکانیسم‌های داروهای ضد تشنج، افزایش عملکرد یا در دسترس بودن گیرنده‌های GABAA می‌باشد (۵۲، ۵۳).

دلیل تناقض مطالعه حاضر با تنها تحقیق انجام شده در این زمینه که توسط Holmes and Weber (۱۹۸۵) انجام شد و تأثیر القای تشنج در دوران بارداری بر پتانسیل تشنج‌پذیری زاده‌ها مشاهده نشد، می‌تواند به تفاوت در زمان انجام آزمون پتانسیل تشنج‌پذیری در موالید برگردد. در تحقیق حاضر پتانسیل تشنج‌پذیری زاده‌ها در روز ۹۵ پس از تولد انجام شد در حالی که در تحقیق Holmes and Weber (۱۹۸۵) پتانسیل تشنج‌پذیری در سن ۱۵ روزگی انجام شد. اگرچه تشنج در دوران بارداری بیان مولکول (PSA-NCAM)<sup>۹</sup> را در هیپوکامپ زاده‌های ۱۴ روزه کاهش داده (۵۴) و PSA-NCAM می‌تواند سبب بازداری گیرنده‌های گلوتامات در هیپوکامپ شود (۵۵) که نقش این گیرنده‌ها در پاتوفیزیولوژی صرع مشاهده شده است (۴۹، ۵۰). با این حال Cossa و همکاران نشان دادند که نسبت Bax/Bcl-2 در روز ۱۴ پس از تولد در زاده‌های متولد شده از موش‌های باردار تحت درمان با پیلوکارپین، به طور معنی‌داری کمتر از زاده‌های گروه کنترل بود در حالی که با افزایش سن و در سن ۲۱ روزگی این نسبت برعکس شد (۵۶). مشاهده شده است که نسبت Bax/Bcl-2 در موش‌هایی که تشنج وابسته به hyperthermia را نشان دادند به ترتیب بیشتر از موش‌هایی بود که تشنج ناشی از hyperthermia را نشان ندادند (۵۷). در تحقیقات دیگری نیز که افزایش معنی‌دار پتانسیل تشنج‌پذیری در زاده‌ها مشاهده شد، پتانسیل تشنج‌پذیری در روزهای ۴۵ و ۲۱ پس از تولد صورت گرفت (۱۶-۱۴).

در مجموع یافته‌های این تحقیق نشان داد که تشنج در دوران بارداری به واسطه افزایش سطوح سرمی GDNF سبب افزایش پتانسیل تشنج‌پذیری در زاده‌های نر بزرگسال می‌شود و این زاده‌ها در ریسک بیشتری از تشنج ناشی از فاکتورهای مانند عفونت سیستم عصبی مرکزی، ضربه به مغز، تب، اختلالات متابولیک، مصرف داروها و سایر موارد می‌باشند (۵۸). بنابراین مطالعه بر روی تأثیرات تشنج در بارداری می‌تواند فرصت‌هایی را برای جلوگیری و یا حذف تشنج در زاده‌ها ایجاد کند.

افزایش سطوح GDNF پایه احتمالاً مرتبط با بالا بودن فاکتورهای التهابی در زاده‌های این گروه باشد. مشاهده شده است فعالسازی ایمنی که به دنبال تشنج رخ می‌دهد (۱۱-۱۳) در دوران بارداری سبب افزایش سطوح فاکتورهای التهابی در زاده‌ها می‌شود (۱۷-۱۹) که این امر می‌تواند افزایش سطوح سرمی GDNF را توجیه کند (۲۲، ۲۳). کیم و همکاران نیز بالا بودن همزمان فاکتورهای التهابی و GDNF را بیان کردند (۲۴). فاکتور نئوتروفیکی GDNF که در بسیاری از مناطق مغز تولید می‌شود به عنوان یک مکانیسم دفاعی بر علیه سایتوکین‌های پیش التهابی عمل کرده (۳۰) و سیگنال‌های مربوط به GDNF به واسطه گیرنده RET، سبب کاهش سایتوکین‌های پیش التهابی می‌شود (۳۱). Rickert و همکاران نیز نقش GDNF را در کاهش فعالسازی میکروگلیا نشان دادند (۳۲). اگرچه مشاهده شده است که تزریق GDNF قبل از القای تشنج سبب کاهش تشنج می‌شود (۲۶، ۲۵) اما در بلندمدت می‌تواند سبب افزایش پتانسیل تشنج شود. Nanobashvili و همکاران بر روی موش‌هایی با سن ۴-۵ هفته‌گی نشان دادند که موش‌های فاقد GDNF پتانسیل تشنج‌پذیری کمتری را نشان دادند (۳۳).

مشاهده شده است که بیان بیش از حد GDNF در بلندمدت، سبب کاهش انتقال‌دهنده دوپامین (DAT)<sup>۹</sup> می‌گردد (۳۴). Boger و همکاران (۲۰۰۷) و Littrell و همکاران (۲۰۱۲) نیز رابطه معکوس بین DAT و GDNF را نشان دادند (۳۵، ۳۶). DAT مسئول کنترل سطوح خارج سلولی دوپامین و حفظ دوپامین در ذخایر و زیگولی به وسیله بازگرداندن دوپامین به داخل زیگول‌ها می‌باشد (۳۷، ۳۸) و کاهش DAT سبب افزایش سطوح خارج سلولی دوپامین<sup>۱۰</sup> می‌گردد (۳۹، ۴۰). ناقل عصبی<sup>۱۱</sup> دوپامین یک ماده فوق‌العاده سمی می‌باشد (۴۱) و افزایش خارج سلولی این ماده سبب تولید استرس اکسیداتیو و کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود (۴۲-۴۴) و گزارش شده است که استرس اکسیداتیو می‌تواند پتانسیل تشنج را افزایش دهد (۴۵). همچنین دوپامین به واسطه فعالسازی میکروگلیاها سبب افزایش سایتوکین‌های پیش التهابی می‌شود (۴۶، ۴۷). سایتوکین‌های پیش التهابی مانند عامل نکروز دهنده تومور آلفا (TNF- $\alpha$ )<sup>۱۲</sup> و اینترلوکین-۱-بتا (IL-1 $\beta$ )<sup>۱۳</sup> با تأثیر بر کانال‌های یونی، گیرنده ناقلین عصبی، افزایش نفوذپذیری سد خونی-مغزی و تغییراتی در بیان زیرواحد گیرنده گلوتامات موجب تحریک تشنج می‌شوند (۲۰، ۲۱). همچنین مشاهده شده است داروهایی که سبب افزایش سطوح خارج سلولی دوپامین می‌شوند، سطوح خارج سلولی گلوتامات در قسمت‌های مختلف

<sup>9</sup> Dopamine transporter

<sup>10</sup> Extracellular dopamine levels

<sup>11</sup> Neurotransmitter

<sup>12</sup> Tumor necrosis factor alpha

<sup>13</sup> Interleukin-1 $\beta$

<sup>14</sup> Polysialylated neural cell adhesion

1. Heinrichs SC. Neurobehavioral consequences of stressor exposure in rodent models of epilepsy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2010; 34(5): 808-15.
2. Hagberg H, Gressens P, Mallard C. Inflammation during fetal and neonatal life: implications for neurologic and neuropsychiatric disease in children and adults. *Ann Neurol*. 2012; 71(4): 444-57.
3. Malkova NV, Yu CZ, Hsiao EY, Moore MJ, Patterson PH. Maternal immune activation yields offspring displaying mouse versions of the three core symptoms of autism. *Brain Behav Immun*. 2012; 26(4): 607-16.
4. Oskvig DB, Elkahlon AG, Johnson KR, Phillips TM, Herkenham M. Maternal immune activation by LPS selectively alters specific gene expression profiles of interneuron migration and oxidative stress in the fetus without triggering a fetal immune response. *Brain Behav Immun*. 2012; 26(4): 623-34.
5. Rico JL, Ferraz DB, Ramalho-Pinto FJ, Morato S. Neonatal exposure to LPS leads to heightened exploratory activity in adolescent rats. *Behav Brain Res*. 2010; 215(1): 102-9.
6. Peljto AL, Cummings Ch B, Vasoli VM, Leibson CL, Hauser WA, Buchhalter JR, et al. Familial risk of epilepsy: a population-based study. *Brain*. 2014; 137(3): 795-805.
7. Babbain FA. Impact of a family history of epilepsy on the diagnosis of epilepsy in Southern Saudi Arabia. *Seizure*. 2013; 22(7): 542-7.
8. Najafi MR, Najafi MA, Safaei A. Association of family history of epilepsy with earlier age onset of juvenile myoclonic epilepsy. *Iranian Journal of Child Neurology*. 2016; 10(2): 10-15.
9. Andersen VE. Genetics in the epilepsies. *Trends Neurosci*. 1985; 8: 513-6.
10. Holmes GL, Weber DA. Effect of seizures during pregnancy on seizure susceptibility in offspring. *Epilepsia*. 1985; 26(5): 421-3.
11. Kan AA, de Jager W, de Wit M, Heijnen C, van Zuiden M, Ferrier C, et al. Protein expression profiling of inflammatory mediators in human temporal lobe epilepsy reveals co-activation of multiple chemokines and cytokines. *J Neuroinflammation*. 2012; 9: 207. doi: 10.1186/1742-2094-9-207.
12. Aronica E, Gorter J. Gene expression profile in temporal lobe epilepsy. *Neuroscientist*. 2007; 13(2): 100-8.
13. Ravizza T, Gagliardi B, Noe F, Boer K, Aronica E, Vezzani A. Innate and adaptive immunity during epileptogenesis and spontaneous seizures: evidence from experimental models and human temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis*. 2008; 29(1): 142-60.
14. Yin P, Liu J, Li Z, Wang YY, Qiao NN, Huang SY, et al. Prenatal immune challenge in rats increases susceptibility to seizure-induced brain injury in adulthood. *Brain Res*. 2013; 26(1519): 78-86.
15. Yin P, Zhang XT, Li J, Yu L, Wang JW, Lei GF, et al. Maternal immune activation increases seizure susceptibility in juvenile rat offspring. *Epilepsy Behav*. 2015; 47: 93-7.
16. Magni DV, Souza MA, Oliveira AP, Furian AF, Oliveira MS, Ferreira J, et al. Lipopolysaccharide enhances glutamic acid-induced seizure susceptibility in rat pups: behavioral and electroencephalographic approach. *Epilepsy Res*. 2011; 93(2-3): 138-48.
17. Zager A, Peron JP, Mennecier G, Rodrigues SC, Aloia TP, Palermo-Neto J. Maternal immune activation in late gestation increases neuroinflammation and aggravates experimental autoimmune encephalomyelitis in the offspring. *Brain Behav Immun*. 2015; 43: 159-71.
18. Kirsten TB, Lippi LL, Bevilacqua E, Bernardi MM. LPS exposure increases maternal corticosterone levels, causes placental injury and increases il-1 $\beta$  levels in adult rat offspring: relevance to autism. *PLoS One*. 2013; 8(12): e82244.
19. Krstic D, Madhusudan A, Doehner J, Vogel P, Notter T, Imhof C, et al. Systemic immune challenges trigger and drive Alzheimer-like neuropathology in mice. *J Neuroinflammation*. 2012; 9: 151. doi: 10.1186/1742-2094-9-151.
20. Vezzani A, Lang B, Aronica E. Immunity and inflammation in epilepsy. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015; 6(2): a022699. doi: 10.1101/cshperspect.a022699.
21. Dambach H, Hinkerohe D, Prochnow N, Stienen MN, Moinfar Z, Haase CG, et al. Glia and epilepsy: experimental investigation of antiepileptic drugs in an astroglia/microglia co-culture model of inflammation. *Epilepsia*. 2014; 55(1): 184-92.
22. Janssen S, Schlegel C, Gudi V, Prajeeth CK, Skripuletz T, Trebst C, et al. Effect of FTY720-

- phosphate on the expression of inflammation-associated molecules in astrocytes in vitro. *Mol Med Rep.* 2015; 12(4): 6171-7.
23. Brambilla L, Guidotti G, Martorana F, Iyer AM, Aronica E, Valori CF, et al. Disruption of the astrocytic TNFR1-GDNF axis accelerates motor neuron degeneration and disease progression in amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet.* 2016; 15(14): 3080-95.
24. Kim D, Bae CH, Jun YL, Jeon H, Koo S, Kim S. Acupuncture alters pro-inflammatory cytokines in the plasma of maternally separated rat pups. *Chin J Integr Med.* 2017; 23(12): 943-7.
25. Yoo YM, Lee CJ, Lee U, Kim YJ. Neuroprotection of adenoviralvector-mediated GDNF expression against kainic-acid-induced excitotoxicity in the rat hippocampus. *Exp Neurol.* 2006; 200(2): 407-17.
26. Kanter-Schlifke I, Georgievska B, Kirik D, Kokaia M. Seizure suppression by GDNF gene therapy in animal models of epilepsy. *Mol Ther.* 2007; 15(6): 1106-13.
27. Sabaghi A, Heyrani A, Kiani A, Yousofvand N. Effect of aerobic training during pregnancy on seizure-induced depression in mouse. *Shefaye Khatam.* 2018; 6(3): 35-42.
28. Kameda SR, Fukushiro DF, Trombin TF, Procópio-Souza R, Patti CL, Hollais AW, et al. Adolescent mice are more vulnerable than adults to single injection-induced behavioral sensitization to amphetamine. *Pharmacol Biochem Behav.* 2011; 98(2): 320-4.
29. Becker A, Grecksch G, Ruthrich HL, Pohle W, Marx B, Matthies H. Kindling and its consequences on learning in rats. *Behav Neural Biol.* 1992; 57(1): 37-43.
30. Saavedra A, Baltazar G, Duarte EP. Driving GDNF expression: the green and the red traffic lights. *Prog Neurobiol.* 2008; 86(3): 186-215.
31. Ibiza S, García-Cassani B, Ribeiro H, Carvalho T, Almeida L, Marques R, et al. Glial-cell-derived neuroregulators control type 3 innate lymphoid cells and gut defence. *Nature.* 2016; 21(535): 440-3.
32. Rickert U, Grampp S, Wilms H, Spreu J, Knerlich-Lukoschus F, Held-Feindt J, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor family members reduce microglial activation via inhibiting p38MAPKs-mediated inflammatory responses. *J Neurodegener Dis.* 2014; 369468.
33. Nanobashvili A, Airaksinen MS, Kokaia M, Rossi j, Asztély F, Olofsdotter K, et al. Development and persistence of kindling epilepsy are impaired in mice lacking glial cell line-derived neurotrophic factor family receptor  $\alpha 2$ . *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; 97(22): 12312-7.
34. Barroso-Chinea P, Cruz-Muros I, Afonso-Oramas D, Castro-Hernández J, Salas-Hernández J, Chtarto A, et al. Long-term controlled GDNF over-expression reduces dopamine transporter activity without affecting tyrosine hydroxylase expression in the rat mesostriatal system. *Neurobiol Dis.* 2016; 88: 44-54.
35. Boger HA, Middaugh LD, Patrick KS, Ramamoorthy S, Denehy ED, Zhu H, et al. Long-term consequences of methamphetamine exposure in young adults are exacerbated in glial cell linederived neurotrophic factor heterozygous mice. *J Neurosci.* 2007; 27(33): 8816-25.
36. Littrell OM, Pomerleau F, Huettl P, Surgener S, McGinty JF, Middaugh LD, et al. Enhanced dopamine transporter activity in middle-aged Gdnf heterozygous mice. *Neurobiol Aging.* 2012; 33(427): e1-14.
37. Giros B, Jaber M, Jones SR, Wightman RM, Caron MG. Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature.* 1996; 15(379): 606-12.
38. Salahpour A, Ramsey AJ, Medvedev IO, Kile B, Sotnikova TD, Holmstrand E, et al. Increased amphetamine-induced hyperactivity and reward in mice overexpressing the dopamine transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105(11): 4405-10.
39. Boudanova E, Navaroli DM, Melikian HE. Amphetamine-induced decreases in dopamine transporter surface expression are protein kinase C-independent. *Neuropharmacology.* 2008; 54(3): 605-12.
40. Wayment HK, Schenk JO, Sorg BA. Characterization of extracellular dopamine clearance in the medial prefrontal cortex: role of monoamine uptake and monoamine oxidase inhibition. *J Neurosci.* 2001; 21: 35-44.
41. Lev N, Barhum Y, Pilosof NS, Ickowicz D, Cohen HY, Melamed E, et al. DJ-1 protects against dopamine toxicity: implications for Parkinson's disease and aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2013; 68(3): 215-25.
42. Goldstein DS, Sullivan P, Cooney A, Jinsmaa Y, Sullivan R, Gross DJ, et al. Vesicular uptake blockade generates the toxic dopamine metabolite 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde in PC12 cells: relevance to the pathogenesis of Parkinson's disease. *J Neurochem.* 2012; 123(6): 932-43.
43. Masoud ST, Vecchio LM, Bergeron Y, Hossain MM

, Nguyen LT , Bermejo MK ,et al. Increased expression of the dopamine transporter leads to loss of dopamine neurons, oxidative stress and L-DOPA reversible motor deficits. *Neurobiol Dis.* 2015; 74: 66-75.

44. Lohr KM, Bernstein AI, Stout KA, Dunn AR, Lazo CR, Alter SP, et al. Increased vesicular monoamine transporter enhances dopamine release and opposes Parkinson disease-related neurodegeneration in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014; 8(27): 9977-82.

45. Ho Y-H, Lin Y-T, Wu C-WJ, Chao Y-M, Chang AYW, Chan JYH. Peripheral inflammation increases seizure susceptibility via the induction of neuroinflammation and oxidative stress in the hippocampus. *J Biomed Sci.* 2015; 22(1): 46. doi: 10.1186/s12929-015-0157-8.

46. Labandeira-Garcia JL, Rodriguez-Pallares J, Dominguez-Mejide A, Valenzuela R, Villar-Cheda B, Rodriguez-Perez AI. Dopamine-angiotensin interactions in the basal ganglia and their relevance for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2013; 28(10): 1337-42.

47. Lee M. Neurotransmitters and microglial-mediated neuroinflammation. *Curr Protein Pept Sci.* 2013; 14(1): 21-32.

48. Underhill SM, Wheeler DS, Li M, Watts SD, Ingram SL, Amara SG. Amphetamine modulates glutamatergic neurotransmission through endocytosis of the excitatory amino acid transporter *eaat3* in dopamine neurons. *Neuron.* 2014; 83(2): 404-16.

49. Rahn KA, Slusher BS, Kaplin AI. Glutamate in CNS neurodegeneration and cognition and its regulation by GCPII inhibition. *Curr Med Chem.* 2012; 19(9): 1335-45.

50. Coulter DA, Eid T. Astrocytic regulation of glutamate homeostasis in epilepsy. *Glia.* 2012; 60(8): 1215-26.

51. Hoerbelt P, Lindsley TA, Fleck MW. Dopamine directly modulates GABAA receptors. *J Neurosci.* 2015; 35(8): 3525-36.

52. Meldrum BS, Rogawski MA. Molecular targets for antiepileptic drug development. *Neurotherapeutics.* 2007; 4(1): 18-61.

53. Quilichini PP, Chiron C, Ben-Ari Y, Gozlan H. Stiripentol, a putative antiepileptic drug, enhances the duration of opening of GABA-A receptor channels. *Epilepsia.* 2006; 47(4): 704-16.

54. Rajabzadeh A, Bideskan AE, Fazel A, Sankian M, Rafatpanah H, Haghiri H. The effect of PTZ-induced epileptic seizures on hippocampal expression of PSA-NCAM in offspring born to kindled rats. *J Biomed Sci.* 2012; 31: 56. doi: 10.1186/1423-0127-19-56.

55. Hammond MS, Sims C, Parameshwaran K, Suppiramaniam V, Schachner M, Dityatev A. Neural cell adhesion molecule-associated polysialic acid inhibits NR2B-containing N-Methyl-D- spartate receptors and prevents glutamate-induced cell death. *J Biol Chem.* 2006; 17(46): 34859-69.

56. Cossa AC, Lima DC, do Vale TG, de Alencar Rocha AK, da Graça Naffah-Mazzacoratti M, José da Silva Fernandes M, et al. Maternal seizures can affect the brain developing of offspring. *Metab Brain Dis.* 2016; 31(4): 891-900.

57. Saedi Borujeni MJ, Hami J, Haghiri H, Rastin M, Sazegar G. Evaluation of Bax and Bcl-2 proteins expression in the rat hippocampus due to childhood febrile seizure. *Iran J Child Neurol.* 2016; 10(1): 53-60.

58. Ghosh S, Jehi LE. New-onset epilepsy in the elderly: Challenges for the internist. *Clev Clin J Med.* 2014; 81(8): 490-8.