

تأثیر ورزش در طول بارداری مادران بر تعدیل بیان ژن NR2B در مغز نوزادان موش صحرایی

طاها قنطاب پور^{۱،۲،۳}، فرزانه علیوند^۱، علی محمدخانی زاده^۴، فرشته گلاب^۱، یاسمینا کاتبی^۱، فریبا کریم زاده^{۱*}

^۱ مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

^۲ مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده پیشگیری از بیماری‌های غیرواگیر و گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

^۳ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

^۴ گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران. ایمیل: fariba_karimzade@yahoo.com

دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۰۹ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۲۲

چکیده

مقدمه: تاکنون مطالعات زیاد تأثیر ورزش بر جنبه‌های مختلف سلامتی جسمی و روانی را مورد بررسی قرار داده‌اند. از سوی دیگر، گیرنده‌های N-methyl-D-aspartate (NMDA) به‌عنوان یکی از مسیرهای مهم درگیر در عملکردهای رفتاری مختلف معرفی شده‌اند. همچنین، در دوران جنینی، برخی از نواحی مغز به میزان زیادی N-methyl D-aspartate receptor 2B (NR2B) که یکی از زیرواحدهای NMDA است را بیان می‌کنند.

اهداف: این مطالعه با هدف بررسی تأثیر ورزش رت‌های ماده در دوران بارداری بر بیان گیرنده NR2B در هیپوکمپ نوزادان انجام شد.

مواد و روش‌ها: رت‌ها پس از جفت‌گیری به دو گروه کنترل و تمرین تقسیم شدند. رت‌های گروه کنترل تا زمان زایمان بدون انجام ورزش نگهداری شدند. حیوانات گروه تمرین (۳۰ دقیقه در روز با شدت خفیف) از روز دهم بارداری تا زمان زایمان دوییدند. بلافاصله پس از زایمان در روز ۲۱-۱۹ بارداری مغز نوزادان برداشته شد و ژن و سطح پروتئین NR2B در هیپوکمپ مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: یافته‌های ما نشان داد که بیان ژن هیپوکمپ NR2B در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین سطح پروتئین NR2B در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: ورزش ممکن است نقش بالقوه‌ای در رشد مغز نوزادان از طریق تعدیل بیان NR2B داشته باشد.

کلمات کلیدی: هیپوکمپ، گیرنده NR2B، بارداری، ورزش

۱. مقدمه

طریق تعدیل گیرنده N-methyl-D-aspartate (NMDA) و بیان سیناپتوفیزین، اختلال یادگیری و حافظه را مهار نموده است (۹). شواهد متعددی دال بر نقش گیرنده‌های NMDA ها در رشد مغز ارائه شده است (۱۰). این گیرنده‌ها با نقش حیاتی خود در فعالیت سیناپسی، از جمله سازماندهی مدارهای عملکردی و تنظیم رشد دندریت‌ها عملکردهای متفاوتی در رشد مغز داشتند (۱۱). مهار این گیرنده‌ها در جنین قورباغه می‌تواند مانع تشکیل زوائد دندریت‌ها شود (۱۲). N-methyl D-aspartate receptor 2B (NR2B) به‌عنوان یک زیرواحد NMDA در نواحی مختلف مغز مانند ساختارهای هیپوکمپ، نئوکورتکس، دیانسفالون و بولب بویایی توزیع شده است (۱۳). فعال‌شدن NR2B منجر به فعال‌شدن مسیر پروتئین کیناز II وابسته به کلسیم/کالمودلین می‌شود (۱۴). ارتباط بین مسیر

فعالیت بدنی باعث بهبود عملکردهای شناختی و سلامت مغز اکثر افراد می‌شود (۱-۳). ورزش، سرعت پردازش و عملکرد اجرایی را بهبود بخشیده و با روند کاهش شناخت به‌دلیل افزایش سن مقابله می‌کند (۴). همچنین، ورزش با تسهیل شکل‌پذیری سیناپسی در هیپوکمپ، یادگیری و حافظه فضایی را بهبود می‌بخشد (۵). علاوه بر این، شواهد نشان داد که ورزش باعث افزایش سلول‌های آستروسیت در قشر حسی حرکتی می‌شود و ممکن است اثر ضدتشنجی آن از این طریق اعمال شود (۶). همچنین ورزش مادران در طول بارداری اثرات مفیدی بر سلامت فرزندان داشته است (۷). به‌طوری که ورزش با تردمیل در دوران بارداری از طریق کاهش فرایندهای التهابی و آپوپتوز آسیب‌پذیری نوزادان نسبت به هیپوکسی-ایسکمی را کاهش می‌دهد (۸). علاوه بر این، ورزش هوازی در دوران کودکی-نوجوانی، از

قبل از جفت‌گیری، تمام موش‌های ماده به تمرین روی تردمیل سازگار شدند (پیش از تمرین روی تردمیل به مدت سه روز متوالی، ۱۵ دقیقه در روز با سرعت ۵ متر در دقیقه بر روی تردمیل دویدند). سپس موش‌های صحرایی نر و ماده به صورت تصادفی در قفس‌های مشترک به مدت ۲۴ ساعت به منظور جفت‌گیری قرار گرفتند. سپس موش‌های ماده جدا شده و برای تشخیص وجود اسپرم، در ابتدای صبح روز بعد (۸:۰۰)، اسمیر واژینال گرفته شد که تاییدکننده روز صفر بارداری بود. موش‌های باردار به صورت تصادفی به دو گروه کنترل و گروه تمرین تقسیم شدند (۵ موش در هر گروه).

۲.۳. نحوه ورزش کردن

تمرین در گروه ورزش از روز دهم بارداری به صورت ۳۰ دقیقه در روز شروع و تا پایان بارداری ادامه یافت. پروتکل تمرین به صورت VO_{2max} ۵۵٪ و بدین شرح بود: موش‌ها روی تردمیل با شیب صفر درجه و با سرعت ۳ متر در دقیقه در ۵ دقیقه اول و با سرعت ۵ متر در دقیقه برای ۵ دقیقه بعدی و با سرعت ۸ متر در دقیقه در ۲۰ دقیقه آخر دویدند (۷، ۲۲).

۳.۳. آماده‌سازی بافت

ده روز پس از زایمان، نوزادان نر به روش هیپوترمی به کمک یخ بیهوش شده و مغز آن‌ها خارج گردید. سپس هیپوکمپ آن‌ها برای مطالعات مولکولی تشریح شد. شش نوزاد از هر گروه برای ارزیابی بیان ژن و بیان پروتئین NR2B انتخاب شدند.

۴.۳. تست Quantitative Reverse Transcription PCR (qRT-PCR)

از هر نمونه به مقدار ۳۰ تا ۵۰ میلی گرم توپین و RNA آن با استفاده از کیت RNx plus (سیناکلون، تهران، ایران) طبق پروتکل سازنده، استخراج و در ۵۰ میکرولیتر آب بدون RNase حل شد. سپس توسط نانودراپ برای تعیین غلظت و خلوصشان مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای بررسی یکپارچگی RNA از روش دناتوره به کمک ژل الکتروفورز استفاده شد.

RNA استخراج‌شده با کمک DNase I برای از بین بردن هرگونه آلودگی با DNA تیمار شد. نمونه‌های RNA تخلیص‌شده به cDNA تبدیل شدند. cDNA ها با ۱ میکروگرم RNA، ۰/۵ میکرولیتر الیگو dTs و ۰/۵ میکرولیتر رندوم هگزامر با استفاده از کیت سنتز cDNA، سنتز شدند.

تمام مراحل براساس پروتکل سازنده انجام شد. یک میکروگرم cDNA سنتز شده برای SYBR Green-based real-time RT-PCR استفاده شد (کیت RR820L, Tli RNaseH Plus, TaKaRa, Kyoto, Japan). مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ درج شده است.

سیگنالینگ NR2B با مخروط‌های رشد آکسونی و ضخامت نورون در حال تکامل نشان داده شده است (۱۵، ۱۶). همچنین تجویز آنتاگونیست NR2B مسیرهای سیگنالینگ بقاء، مرگ نورنی و تقویت سیناپسی را تعدیل نموده است (۱۷). علاوه بر این، زیر واحدهای NR2B فاکتورهای اساسی برای تقویت حافظه و تنظیم شکل‌پذیری سیناپسی در ساختارهای هیپوکمپ هستند (۱۸). به عنوان مثال، بیان بیش از حد NR2B در هیپوکمپ باعث بهبود یادگیری و حافظه در موش‌های مدل پیری تسریع شده (Senescence-accelerated mouse) گردیده است (۱۹).

مطالعات دیگر بر نقش NR2B در دوران جنینی اشاره دارند. از جمله آن‌ها، استرس دوران بارداری از طریق کاهش بیان NR2B در هیپوکمپ نوزادان موش باعث ایجاد ناهنجاری‌های یادگیری و حافظه می‌شود (۲۰). همچنین قرار گرفتن موش‌های باردار در معرض آتازین به عنوان یک علف‌کش پرمصرف، از طریق تاثیر بر مسیر سیگنالینگ Postsynaptic density protein-95 (PSD95) / NR2B باعث آسیب به حافظه و یادگیری می‌شود و این آسیب با ورزش کردن در دوران بارداری کاهش می‌یابد (۲۱). به علاوه، در معرض انفلوران قرار گرفتن موش‌های صحرایی باردار از طریق کاهش بیان NR2B باعث اختلال در عملکرد شناختی فرزندان شده است. همه این مطالعات به نقش NR2B در رشد مغز در دوران جنینی و نوزادی تاکید می‌کنند.

۲. اهداف

با توجه به نقش گیرنده‌های NMDA در حافظه و یادگیری و افزایش بیان زیرواحد NR2B در طول دوره جنینی و همچنین افزایش بیان این گیرنده به دنبال ورزش، در این مطالعه، تاثیر ورزش در دوران بارداری را بر بیان گیرنده NR2B در فرزندان تازه متولد شده موش‌های صحرایی و بستار بررسی شد.

۳. مواد و روش‌ها

۱.۳. حیوانات

در این مطالعه، از ده سر موش صحرایی نر بالغ و ده موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار سالم (سن ۱۴ هفته، وزن ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم) از مرکز آزمایشی حیوانات دانشگاه علوم پزشکی ایران (تهران، ایران) استفاده گردید. حیوانات مورد آزمایش در تمام مراحل آزمون تحت شرایط کنترل دقیق، دور بودن از استرس در دمای محیط 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد، چرخه نور/تاریکی ۱۲ ساعت با رطوبت ۳۵ درصد و دسترسی آزاد به غذا و آب نگهداری شدند. تمامی آزمایشات براساس دستورالعمل تایید شده توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ایران (IR.IJMS.REC.1401.538) انجام شد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده برای Q-PCR

ژن ها	پرایمر رفت	پرایمر برگشت
NR2B	GAGAAGAGGACCCTGGATATTC	GGGAAGTACTGAGAGATGATGG
β -actin	AAGTCCCTCACCTCCCAAAAG	AAGCAATGCTGTCACCTCCC

تجزیه و تحلیل کمی توسط نرم افزار J Image انجام شد.

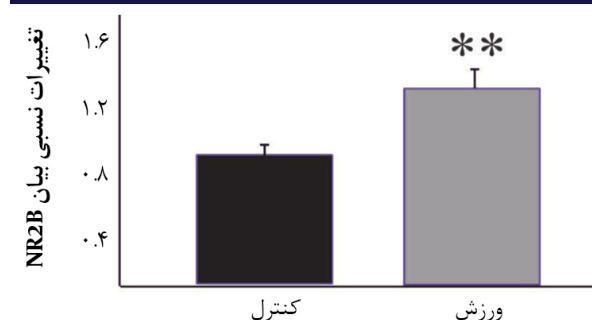
۶.۳. تحلیل آماری

داده ها به شکل $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ به کمک آزمون t مستقل، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ آنالیز شد. معنی دار در سطح $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

۴. نتایج

۱.۴. ارزیابی بیان ژن

بیان ژن NR2B با روش real-time PCR در هیپوکمپ موش های صحرایی در گروه های تمرین و کنترل مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج افزایش معنی داری از بیان NR2B در نوزادان گروه تمرین (1.3 ± 0.12) در مقایسه با نوزادان گروه کنترل (0.9 ± 0.11) را نشان داد (تصویر ۱).



تصویر ۱. اثر ورزش بر بیان ژن NR2B هیپوکمپ. بیان ژن در نوزادان گروه تمرین به طور معنی داری افزایش یافت. ** نشان دهنده $P < 0.01$ است.

۲.۴. ارزیابی و سترن بلات

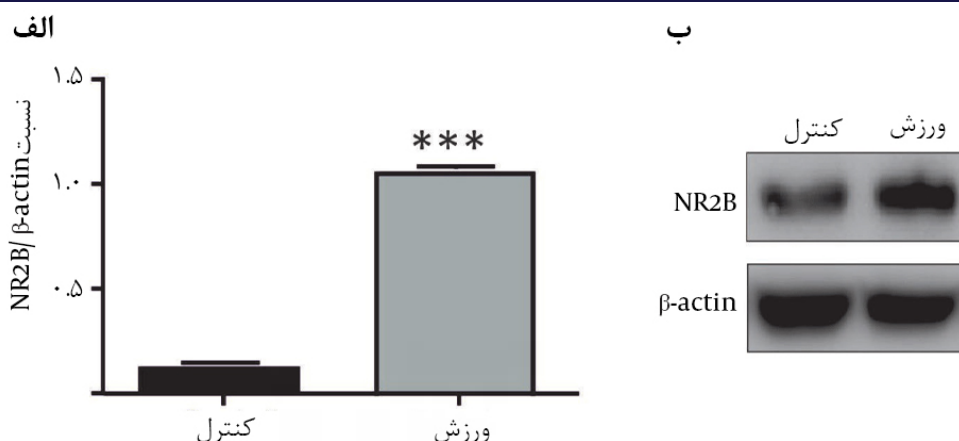
سطح پروتئین کل NR2B هیپوکمپ در نوزادان با استفاده از و سترن بلات ارزیابی شد. همانطور که در تصویر ۲ نشان داده شده است، مقدار NR2B در گروه ورزش در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافته است. میزان بیان گیرنده مذکور در نوزادان گروه تمرین ۸/۸ برابر افزایش بیان داشته است ($P < 0.001$).

پارامترهای ترموسایکلینگ به شرح زیر بود: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه، ۴۰ چرخه ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۵ ثانیه و بازپخت و ازدیاد طول در ۶۰ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه. از بتا اکتین برای نرمال سازی بارگذاری برای هر نمونه استفاده شد. بیان تغییرات نسبی با استفاده از روش $\Delta \Delta Ct$ نسبت به مقادیر بیان ژن برای گروه کنترل تعیین شد.

۵.۳. و سترن بلات

بافت های هیپوکمپ توسط بافر لیزکننده حاوی ۵۰ میلی مولار بافر تریس، حاوی EDTA یک میلی مولار، تریتون X-۱۰۰ درصد، فنیل متیل سولفونیل فلوراید یک میلی مولار، آپروتینین (۱ میکروگرم بر میلی لیتر)، پپساتین (۱ میکروگرم بر میلی لیتر) و لپتین (۱ میکروگرم بر میلی لیتر) در دمای ۴ درجه سانتی گراد با $\text{pH} = 7.4$ همگن شدند. برای ارزیابی غلظت پروتئین از آزمون برادفورد استفاده شد. سپس نمونه ها (۵۰ میکروگرم پروتئین از هر نمونه) توسط بافر تریس حاوی با اسیدیت ۶/۸، گلیسرول ۱۰ درصد (۷/۷)، سدیم دودسیل سولفات ۱۰ درصد (wt/vol)، دی تیوتریتول ۱۰ میلی مولار مخلوط شدند.

نمونه ها با ژل الکتروفورز - SDS پلی آکریل آمید ۱۲ درصد حل شدند و روی غشاهای پلی وینیلیدین دی فلوراید الکتروبلات شدند. غشاهای PVDF یک شب در بافر تریس (تریس ۱۰۰ میلی مولار، NaCl ۰/۹ درصد، تئوین ۲۰ ۰/۱ درصد، pH طبیعی)، حاوی ۵ درصد شیر خشک بدون چربی انکوبه شدند. سپس، بلات ها به مدت ۳ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد با آنتی بادی های مونوکلونال علیه NR2B (۱:۱۰۰۰)، و آنتی بادی های مونوکلونال ضد بتا اکتین موش انکوبه شدند (۱:۱۰۰۰). سپس غشاهای با بافر تریس سه بار (هر بار حدود ۱۵ دقیقه) شسته شدند و سپس به مدت ۹۰ دقیقه با آنتی بادی های ثانویه کونژوگه با HRP (۱:۱۰۰۰) انکوبه شدند. کیت ECL برای تشخیص واکنش پذیری ایمنی مورد استفاده قرار گرفت و سپس لکه ها به مدت ۵ تا ۳۰ ثانیه در معرض فیلم اشعه ایکس حساس به نور آبی قرار گرفتند. فیلم اشعه ایکس توسط اسکنر Bio-Rad اسکن شد.



تصویر ۲. سطح پروتئین کل NR2B در بافت هیپوکمپ، الف، نمودار نتایج کمی سطح پروتئین NR2B در هیپوکمپ نوزاد را نشان می‌دهد. *** نشان‌دهنده $P < 0.001$ است. ب، تصاویر باندهای وسترن بلات.

۵. بحث

در این تحقیق، بیان ژن NR2B و پروتئین آن در نوزادان تازه‌متولدشده موش‌های ویستار که در دوران بارداری ورزش کرده بودند، مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به نتایج ما، ورزش مادران در طول دوران بارداری باعث افزایش بیان ژن NR2B و پروتئین NR2B در هیپوکمپ نوزادان شد.

از آنجاکه جنین‌زایی و ارگانونز تا حد زیادی تحت تاثیر محیط خارجی قرار دارند، مطالعات متعددی تاثیر برخی مداخلات در دوران بارداری بر نوزادان را بررسی کرده‌اند (۲۳)، استرس در دوران بارداری منجر به نارس، کاهش وزن هنگام تولد و عقب‌ماندگی رشد داخل رحمی می‌شود (۲۵). گوش‌دادن مادر به موسیقی در طول بارداری منجر به افزایش نورونز در قشر حرکتی حسی نوزادان موش‌ها صحرایی و در مقابل، محیط خارجی پرسروصدا نورونز و تراکم سلولی در قشر حرکتی حسی فرزندان را کاهش می‌دهد (۲۶). ورزش مادر باعث کاهش اضطراب و افزایش مقادیر پروتئین فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و فاکتور نوروتروفیک مشتق‌شده از مغز در قشر پیش‌پیشانی نوزادان می‌گردد (۲۷). همچنین دوییدن مادران باردار چاق حافظه را بهبود بخشیده و رشد عصبی را در هیپوکمپ نوزادان افزایش می‌دهد (۲۸).

مطالعات نشان داده‌اند که گیرنده NR2B در یادگیری و حافظه نقش دارد و باعث تقویت سیناپسی هیپوکمپ می‌شود (۲۹، ۳۰). از طرفی فعال‌سازی این گیرنده به ورود یون کلسیم به داخل سلول کمک می‌کند بنابراین از این طریق ممکن است از این طریق بر حافظه و یادگیری تاثیر می‌گذارد (۲۹).

برخی از مطالعات به بررسی NR2B در دوران نوزادی پرداختند. اختلال در بیان NR2B و به دنبال آن کمبود روی

(Zn) در روزهای اولیه پس از تولد، منجر به اختلال در یادگیری و حافظه گردید (۳۱). غنی‌سازی محیط با موسیقی از روز چهاردهم پس از تولد، منجر به بیان بیش از حد NR2B در قشر شنوایی شده است و به افزایش توانایی یادگیری کمک می‌کند (۳۲). همچنین قرار گرفتن در معرض ایزوفلوران باعث کاهش بیان هیپوکمپ NR2B در موش‌های ۷ روزه نوزاد و اختلال در یادگیری و حافظه در سنین نوجوانی شده است (۳۳).

مطالعه ما حاکی از تغییر مولکولی مغز به دنبال ورزش در طول بارداری در نوزادان متولدشده است. این تغییرات شامل افزایش بیان پروتئین و ژن NR2B در هیپوکمپ نوزادان موش‌های صحرایی است. با توجه به نقش پروتئین NR2B در تقویت حافظه به نظر می‌رسد افزایش بیان این پروتئین در هیپوکمپ نوزادان به بهبودی حافظه آن‌ها کمک می‌کند. البته به منظور بررسی دقیق‌تر این امر پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آینده بررسی‌های بیشتری به منظور مطالعه عملکردی حافظه در دوران نوجوانی صورت پذیرد. مطالعه ما با نتایج دیگر مطالعات همسو بوده است. از جمله: ورزش داوطلبانه مادران باعث افزایش سطح ژن گیرنده مذکور در هیپوکمپ فرزندان تازه‌متولدشده می‌شود (۳۴). به علاوه، شناکردن از طریق افزایش بیان NR2B باعث کاهش آسیب به حافظه و یادگیری ناشی از آتازین می‌شود (۲۱). با توجه به این شواهد و ارتباط آن‌ها با یافته‌های ما، احتمال می‌رود تعدیل بیان NR2B در هیپوکمپ به دنبال ورزش مادر ممکن است موجب بهبود رشد ساختاری و همچنین عملکردی مغز نوزادان گردد. جهت بررسی همبستگی میان بیان پروتئین و ژن NR2B هر دو بررسی شدند تا نقش تغییرات پس از ترجمه ژن NR2B نیز بررسی شود و در نهایت پروتئین است که نقش اصلی را بازی می‌کند. لازم به ذکر است در این

References

1. Law CK, Lam FM, Chung RC, Pang MY. Physical exercise attenuates cognitive decline and reduces behavioural problems in people with mild cognitive impairment and dementia: a systematic review. *J Physiother*. 2020;**66**(1):9-18. [PubMed ID:31843427]. <https://doi.org/10.1016/j.jphys.2019.11.014>.
2. Azizi-Farsani F, Shahrani-Korani M. [The Impact of Treadmill Exercise on Anxiety and Nicotine induced CPP in Mice undergoing Chronic Stress]. *Koomesh J*. 2023;**25**(5). Persian.
3. Zamani M, Radahmadi M, Reisi P. Therapeutic effects of exercise, escitalopram and exercise-accompanied escitalopram on brain functions in rats with depression. *Physiol Pharmacol*. 2022;**26**(2):188-99. <https://doi.org/10.52547/phypha.26.2.7>.
4. Erickson KI, Hillman C, Stillman CM, Ballard RM, Bloodgood B, Conroy DE, et al. Physical Activity, Cognition, and Brain Outcomes: A Review of the 2018 Physical Activity Guidelines. *Med Sci Sports Exerc*. 2019;**51**(6):1242-51. [PubMed ID:31095081]. [PubMed Central ID:PMC6527141]. <https://doi.org/10.1249/mss.0000000000001936>.
5. Wu Y, Deng F, Wang J, Liu Y, Zhou W, Qu L, et al. Intensity-dependent effects of consecutive treadmill exercise on spatial learning and memory through the p-CREB/BDNF/NMDAR signaling in hippocampus. *Behav Brain Res*. 2020;**386**:112599. [PubMed ID:32184158]. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112599>.
6. Bavi S, Navazesh A, Rasoolijazi H, Zavvari F, Soleimani M, Karimzadeh F. Modulatory effect of exercise on reactive astrocytes in the somatosensory cortex of epileptic rats. *Sport Sciences for Health*. 2024;**20**(1):65-72.
7. Zavvari F, Alivan F, Abdi M, Jahanbazi Jahan-Abad A, Karimzadeh F. Maternal exercise during pregnancy increases neuregulin-1 and ErbB4 expression in the newborn offspring of Wistar rats. *Sport Sciences for Health*. 2022;**18**(3):939-45. <https://doi.org/10.1007/s11332-021-00878-w>.
8. Gorgij E, Fanaei H, Yaghmaei P, Shahraki MR, Mirahmadi H. Treadmill Exercise during Pregnancy Decreased Vulnerability to Neonatal Hypoxia-Ischemia through Reducing Inflammation and Increasing Antiapoptotic Gene Expressions and Antioxidant Capacity in Rats. *Stroke Res Treat*. 2021;**2021**:5512745. [PubMed ID:33936582]. [PubMed Central ID:PMC8060122]. <https://doi.org/10.1155/2021/5512745>.
9. Sun GC, Lee YJ, Lee YC, Yu HF, Wang DC. Exercise prevents the impairment of learning and memory in prenatally phthalate-exposed male rats by improving the expression of plasticity-related proteins. *Behav Brain Res*. 2021;**413**:113444. [PubMed ID:34245761]. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113444>.
10. Yaghoobi Z, et al. [Evaluation of the effect of NMDAR agonist and antagonist on neuronal death in cerebral ischemia/reperfusion model in rats]. *Koomesh J*.

مطالعه هم بیان ژن و هم بیان پروتئین NR2B در نوزادان گروه تمرین افزایش پیدا کرد.

۱.۵. نتیجه گیری

ورزش مادر می تواند نقش تعدیلی در بیان ژن و پروتئین NR2B مغز نوزادان داشته باشد. این امر ممکن است منجر به بهبود شناخت و یادگیری نوزادان در بزرگسالی گردد.

۲.۵. محدودیت های پژوهش

در این مطالعه، تغییرات بیان NR2B در نوزادان پس از ورزش مادر ارزیابی شد. به نظر می رسد تغییرات ساختاری و عملکردی بهتر است در موش های جوان که مادرانشان سابقه ورزش داشته اند نیز بررسی گردد.

مشارکت نویسندگان:

ت. ق.: جمع آوری داده های تجربی؛ ف. الف.: آزمایش و سترن بلات؛ الف. م.: تجزیه و تحلیل داده ها؛ ف. ق. و ی. ک.: RT-PCR؛ ف. ک.: سرپرست و مشاور اصلی.

تضاد منافع:

نویسندگان هیچ گونه تضاد منافی را برای این مطالعه اعلام نمی کنند.

باز یابی داده ها:

مجموعه داده های ارائه شده در این مطالعه بنا به درخواست نویسندگان مسئول در حین ارسال یا پس از انتشار آن در دسترس است. داده ها به دلیل سیاست های دانشگاه در دسترس عموم نیستند.

کد اخلاق:

IR.IUMS.REC.1401.538.

حمایت مالی و معنوی:

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی ایران به شماره ۲۲۷۴۸ انجام شده است.

2023;**25**(5). Persian.

11. Ewald RC, Van Keuren-Jensen KR, Aizenman CD, Cline HT. Roles of NR2A and NR2B in the development of dendritic arbor morphology in vivo. *J Neurosci*. 2008;**28**(4):850-61. [PubMed ID:18216193]. [PubMed Central ID:PMC6671013]. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.5078-07.2008>.
12. Sin WC, Haas K, Ruthazer ES, Cline HT. Dendrite growth increased by visual activity requires NMDA receptor and Rho GTPases. *Nature*. 2002;**419**(6906):475-80. [PubMed ID:12368855]. <https://doi.org/10.1038/nature00987>.
13. Zhou XM, Liu CY, Liu YY, Ma QY, Zhao X, Jiang YM, et al. Xi-aoyaosan Alleviates Hippocampal Glutamate-Induced

- Toxicity in the CUMS Rats via NR2B and PI3K/Akt Signaling Pathway. *Front Pharmacol*. 2021;**12**:586788. [PubMed ID:33912031]. [PubMed Central ID:PMC8075411]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.586788>.
14. Zhuang ZF, Wu HY, Song YY, Li L, Cui X, Yang J, et al. N-Methyl D-aspartate receptor subtype 2B/Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II signaling in the lateral habenula regulates orofacial allodynia and anxiety-like behaviors in a mouse model of trigeminal neuralgia. *Front Cell Neurosci*. 2022;**16**:981190. [PubMed ID:36187288]. [PubMed Central ID:PMC9521491]. <https://doi.org/10.3389/fncel.2022.981190>.
 15. Furuie H, Yamada M. Neonatal blockade of NR2A-containing but not NR2B-containing NMDA receptor induces spatial working memory deficits in adult rats. *Neurosci Res*. 2022;**176**:57-65. [PubMed ID:34656645]. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2021.10.005>.
 16. Zavvari F, Modarres Mousavi SM, Ejlali M, Barfi S, Karimzadeh F. Glutamate Signaling Pathway in Absence Epilepsy: Possible Role of Ionotropic AMPA Glutamate Receptor Type 1 Subunit. *Iran J Pharm Res*. 2020;**19**(4):410-8. [PubMed ID:33841553]. [PubMed Central ID:PMC8019882]. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.112638.13869>.
 17. Martel MA, Wyllie DJ, Hardingham GE. In developing hippocampal neurons, NR2B-containing N-methyl-D-aspartate receptors (NMDARs) can mediate signaling to neuronal survival and synaptic potentiation, as well as neuronal death. *Neuroscience*. 2009;**158**(1):334-43. [PubMed ID:18378405]. [PubMed Central ID:PMC2635533]. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.01.080>.
 18. Zhang W, Tian F, Zheng J, Li S, Qiang M. Chronic Administration of Benzo(a)pyrene Induces Memory Impairment and Anxiety-Like Behavior and Increases of NR2B DNA Methylation. *PLoS One*. 2016;**11**(2):e0149574. [PubMed ID:26901155]. [PubMed Central ID:PMC4768874]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149574>.
 19. Niimi K, Takahashi E, Itakura C. Improved short-term memory and increased expression of NR2B observed in senescence-accelerated mouse (SAM) P6. *Exp Gerontol*. 2008;**43**(9):847-52. [PubMed ID:18647646]. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2008.06.010>.
 20. Zhao D, Liu D, Chen X, Wang K, Zhang A, Kang J, et al. Prenatal stress disturbs hippocampal KIF17 and NR2B in spatial cognition in male offspring. *J Neurosci Res*. 2013;**91**(4):535-44. [PubMed ID:23239421]. <https://doi.org/10.1002/jnr.23172>.
 21. Wang D, Li B, Wu Y, Li B. The Effects of Maternal Atrazine Exposure and Swimming Training on Spatial Learning Memory and Hippocampal Morphology in Offspring Male Rats via PSD95/NR2B Signaling Pathway. *Cell Mol Neurobiol*. 2019;**39**(7):1003-15. [PubMed ID:31187311]. [PubMed Central ID:PMC11457838]. <https://doi.org/10.1007/s10571-019-00695-3>.
 22. Bahramian A, Mirzaei B, Karimzadeh F, Ramhmaninia F, Gaeini AA, Naderi N, et al. The Effects of Exercise Training Intensity on the Expression of C/EBP β and CITED4 in Rats with Myocardial Infarction. *Asian J Sports Med*. 2018;**9**(4). <https://doi.org/10.5812/asjsm.59300>.
 23. Shayan M, Mehrannia K, Rastegar T, Khanezhad M, Ghantabpour T, Hassanzadeh G. Teratogenic effect of the aqueous extract of the *Foeniculum vulgare* (fennel) on fetal development in mice. *J Contemporary Med Sci*. 2019;**5**(5):258-63. <https://doi.org/10.22317/jcms.v5i5.657>.
 24. Graham AM, Rasmussen JM, Rudolph MD, Heim CM, Gilmore JH, Styner M, et al. Maternal Systemic Interleukin-6 During Pregnancy Is Associated With Newborn Amygdala Phenotypes and Subsequent Behavior at 2 Years of Age. *Biol Psychiatry*. 2018;**83**(2):109-19. [PubMed ID:28754515]. [PubMed Central ID:PMC5723539]. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.05.027>.
 25. Berghänel A, Heistermann M, Schülke O, Ostner J. Prenatal stress accelerates offspring growth to compensate for reduced maternal investment across mammals. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017;**114**(50):E10658-e66. [PubMed ID:29180423]. [PubMed Central ID:PMC5740685]. <https://doi.org/10.1073/pnas.1707152114>.
 26. Kim CH, Lee SC, Shin JW, Chung KJ, Lee SH, Shin MS, et al. Exposure to music and noise during pregnancy influences neurogenesis and thickness in motor and somatosensory cortex of rat pups. *Int Neurol*. 2013;**17**(3):107-13. [PubMed ID:24143288]. [PubMed Central ID:PMC3797889]. <https://doi.org/10.5213/inj.2013.17.3.107>.
 27. Aksu I, Baykara B, Ozbal S, Cetin F, Sisman AR, Dayi A, et al. Maternal treadmill exercise during pregnancy decreases anxiety and increases prefrontal cortex VEGF and BDNF levels of rat pups in early and late periods of life. *Neurosci Lett*. 2012;**516**(2):221-5. [PubMed ID:22503727]. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.03.091>.
 28. Ji ES, Kim YM, Ko YJ, Baek SS. Treadmill exercise in obese maternal rats during pregnancy improves short-term memory through neurogenesis in the hippocampus of rat pups. *J Exerc Rehabil*. 2020;**16**(5):392-7. [PubMed ID:33178640]. [PubMed Central ID:PMC7609846]. <https://doi.org/10.12965/jer.2040618.309>.
 29. Wang D, Jacobs SA, Tsien JZ. Targeting the NMDA receptor subunit NR2B for treating or preventing age-related memory decline. *Expert Opin Ther Targets*. 2014;**18**(10):1121-30. [PubMed ID:25152202]. <https://doi.org/10.1517/14728222.2014.941286>.
 30. Ding Q, Yu Q, Tao L, Guo Y, Zhao J, Yu J. DL-3-n-butylphthalide enhances synaptic plasticity in mouse model of brain impairments. *STEMedicine*. 2022;**3**(1). <https://doi.org/10.37175/stemedicine.v3i1.113>.
 31. Chowanadisai W, Kelleher SL, Lönnnerdal B. Maternal zinc deficiency reduces NMDA receptor expression in neonatal rat brain, which persists into early adulthood. *J Neurochem*. 2005;**94**(2):510-9. [PubMed ID:15998301]. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03246.x>.
 32. Xu J, Yu L, Cai R, Zhang J, Sun X. Early auditory enrichment with music enhances auditory discrimination learning and alters NR2B protein expression in rat audi-

- tory cortex. *Behav Brain Res*. 2009;**196**(1):49-54. [PubMed ID:18706452]. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.07.018>.
33. Liu J, Zhao Y, Yang J, Zhang X, Zhang W, Wang P. Neonatal Repeated Exposure to Isoflurane not Sevoflurane in Mice Reversibly Impaired Spatial Cognition at Juvenile-Age. *Neurochem Res*. 2017;**42**(2):595-605. [PubMed ID:27882447]. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-2114-7>.
34. Farmer J, Zhao X, van Praag H, Wodtke K, Gage FH, Christie BR. Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience*. 2004;**124**(1):71-9. [PubMed ID:14960340]. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.09.029>.

Research Article

The Effect of Exercise During Maternal Pregnancy on the Modulation of NR2B Gene Expression in the Brain of Newborn Rats

Taha Ghantabpour ^{1, 2, 3}, Farzaneh Alivand ¹, Ali Mohammadkhanizadeh ⁴, Freshteh Golab ¹, Yasmina Katebi ¹, Fariba Karimzadeh ^{1, *}

¹Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

²Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for prevention of Non-Communicable Diseases and Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

³Student Research Committee, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴Department of Physiology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Corresponding Author: Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Emsil: fariba-karimzade@yahoo.com

Received 29/05/2024; Accepted 12/08/2024

Abstract

Background: So far, many studies have investigated the effect of exercise on various aspects of physical and mental health. On the other hand, N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors have been introduced as one of the important pathways involved in multiple behavioral functions. Also, during the embryonic period, some brain areas express N-methyl-D-aspartate receptor 2B (NR2B), which is one of the NMDA subunits, in large amounts.

Objectives: This study aimed to investigate the effect of exercise in female rats during pregnancy on the expression of the NR2B receptor in the hippocampus of newborns.

Methods: After mating, the pregnant rats were divided into the control and the exercise groups. The control group rats were left without exercise until delivery. Animals in the exercise group were run (30 min, low intensity) from the 10th day of pregnancy until delivery. Immediately after delivery, on day 19 - 21 of pregnancy, the pups' brains were removed and the hippocampal gene and protein level of NR2B was evaluated.

Results: Our findings showed that the hippocampal gene expression of NR2B was significantly enhanced in the exercise group compared to the control group. Also, the protein level of NR2B was raised in the exercise group compared to the control group.

Conclusions: Exercise might have a potential role in developing newborns' brains by modulating the NR2B expression.

Keywords: Hippocampus, NR2B Receptor, Pregnancy, Exercise