

Research Paper 

## The Effect of Eight Weeks of Moderate-Intensity Aerobic Exercise on the Expression of MicroRNA-23a, MDA Levels, and CAT Enzyme Activity in the Hippocampus of Epileptic Rats

Sabah Rezagholi<sup>1</sup> , Mohammad Reza Kordi<sup>2\*</sup> , Amir Hossein Saffar Kohneh Quchan<sup>3</sup>   
Reza Nouri<sup>4</sup> 

Received: June 18, 2025

Revised: August 19, 2025

Accepted: August 20, 2025

### ABSTRACT

**Objective:** Oxidative stress is a important factor in exacerbating epilepsy, neuronal hyperexcitability, and increased seizure frequency. This study aimed to investigate the effects of aerobic exercise on hippocampal miR-23a expression, malondialdehyde (MDA) levels and catalase (CAT) enzyme activity, and seizure frequency in rats with epilepsy.

**Methodology:** In this study, thirty-two male Wistar rats (4–6 weeks old) were randomly assigned to four groups: healthy, sham, epileptic, and epileptic + aerobic training. Epilepsy was induced by intra-hippocampal injection of kainic acid, and seizure severity was evaluated using the Racine scale. The training protocol consisted of moderate-intensity aerobic exercise performed for eight weeks, five sessions per week, with each session lasting 40 minutes. Forty-eight hours after the last training session, the animals were anesthetized with ketamine and xylazine, and the hippocampal tissue was extracted. Catalase (CAT) activity and malondialdehyde (MDA) levels were measured using the ELISA method, while the expression of miR-23a was assessed by real-time PCR.

**Results:** Aerobic exercise reduced hippocampal MDA levels ( $P=0.007$ ) and miR-23a expression ( $P=0.53$ ) while increasing CAT enzyme activity ( $P=0.02$ ) in epileptic rats. Seizure frequency was also significantly decreased in the epileptic rats ( $P=0.01$ ).

**Conclusion:** Eight weeks of regular exercise can lead to a reduction in lipid peroxidation and an increase in the antioxidant enzyme CAT in the hippocampus. This improvement in antioxidant status was associated with a decrease in the number of seizures.

**Keywords:** Oxidative stress, Seizure, Regular exercise, Lipid peroxidation

1. PhD Student in Exercise Physiology, Aras International Campus, University of Tehran, Tabriz, Iran

2. Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran (Corresponding Author) \***Corresponding Author:** Mohammad Reza Kordi . Email: [mrkordi@ut.ac.ir](mailto:mrkordi@ut.ac.ir)

3. Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran. 4. Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran.

**Cite this article:** Rezagholi. S., Kordi M., Saffar Kohneh Quchan A. Nouri R. (2025). The Effect of Eight Weeks of Moderate-Intensity Aerobic Exercise on the Expression of MicroRNA-23a, MDA Levels, and CAT Enzyme Activity in the Hippocampus of Epileptic Rats. *Journal of Metabolism and Exercise*, 15 (1), 120-138.

DOI: <https://doi.org/10.22124/jme.2025.30771.412>

### Extended Abstract

diseases. Globally, it affects nearly 50 million people. Since epilepsy is not a single disease but rather a spectrum of complex neurological conditions, there is no universally accepted definition. One classification is based on the affected brain region, with temporal lobe epilepsy (TLE) being the most common form. TLE has the highest potential to progress into drug-resistant epilepsy, which is defined as the failure to respond to at least two appropriately chosen and adequately administered antiseizure medications. MicroRNAs (miRNAs) are single-stranded, non-coding RNA molecules that negatively regulate gene expression at the post-transcriptional level. Dysregulation of miRNAs has been associated with a wide range of diseases. Growing evidence suggests that miRNAs play a pivotal role in the onset and progression of various neurological disorders, including epilepsy. Altered expression of miRNAs in the epileptic focus has been observed both in experimental TLE models and in patients with TLE. Oxidative stress influences the expression of several miRNAs, and conversely, miRNAs can regulate many genes involved in the oxidative stress response. Both oxidative stress and miRNA regulatory networks contribute to the pathophysiology of neurological diseases, including epilepsy. Among these, miR-23a is one of the most commonly implicated miRNAs, with a role in hippocampal neuronal injury and spatial memory impairment in experimental TLE models. A study by Zhou et al. (2019) demonstrated that miR-23a expression was significantly increased in the hippocampus of kainic acid-induced TLE rats, and this upregulation was associated with hippocampal oxidative damage. Moreover, inhibition of miR-23a expression via miR-23a antagomirs significantly attenuated oxidative stress and neuronal injury, suggesting that targeting miR-23a may offer a novel neuroprotective strategy for patients with TLE. Previous studies have shown that physical exercise can significantly modulate miRNA expression in the central nervous system, potentially influencing neuronal health and cognitive performance. Exercise has been reported to improve epilepsy symptoms by regulating miRNA expression and reducing oxidative stress. Additionally, exercise can ameliorate neuroinflammation, improve mental health, enhance learning, quality of life, and memory in patients with epilepsy. Aerobic exercise, in particular, has been shown to reduce oxidative stress and increase antioxidant enzyme activity, in parallel with a decrease in seizure frequency and severity in epileptic rats. One such antioxidant enzyme is catalase (CAT), which plays a central role in reducing oxidative stress. Therefore, part of the beneficial effects of exercise on epilepsy may be attributed to its ability to enhance antioxidant defense mechanisms. Based on previous findings, it appears that aerobic exercise can contribute to the improvement of epilepsy, possibly through restoring oxidative balance in the brain. However, further studies are required to confirm this mechanism. Accordingly, the present study aimed to investigate the effects of eight weeks of moderate-intensity aerobic training on miR-23a expression, malondialdehyde (MDA) levels, and catalase (CAT) activity in kainic acid-induced epileptic rats.

### Methodology

total of 32 male Wistar rats were purchased from the Pasteur Institute, with an average age of 6–8 weeks and a mean body weight of  $266.62 \pm 14.96$  g. The animals were randomly divided into four groups: healthy control (CON, n=8), epileptic (EPI, n=8), which received kainic acid injection, epileptic + moderate-intensity continuous training (EPI+MICT, n=8), which underwent eight weeks of aerobic exercise following kainic acid injection, and sham (SHAM, n=8), which received only saline injection. The rats were housed under controlled conditions at

22–26 °C, 55–65% humidity, and a 12:12 h light/dark cycle, with free access to food and water. Epilepsy was induced by intra-hippocampal injection of kainic acid, and seizure severity was evaluated using the Racine scale. The aerobic training protocol was performed for 8 weeks, 5 days per week, 40 minutes per session, at 60% of  $V_{max}$  as moderate-intensity continuous training. Forty-eight hours after the last training session, the animals were anesthetized with ketamine and xylazine, and the hippocampal tissue was extracted. Catalase (CAT) activity and malondialdehyde (MDA) levels were measured using the ELISA method, while the expression of miR-23a was assessed by real-time PCR.

### Results

The findings of the present study demonstrated that, compared with the sham group, epilepsy induction significantly increased miR-23a expression ( $P = 0.02$ ) and MDA levels ( $P = 0.001$ ), while significantly reducing CAT enzyme activity in the hippocampus ( $P = 0.001$ ). Furthermore, eight weeks of aerobic exercise significantly decreased hippocampal MDA levels ( $P = 0.007$ ) and non-significantly reduced miR-23a expression ( $P = 0.53$ ), while significantly increasing CAT activity ( $P = 0.02$ ). These changes were accompanied by a significant reduction in the number of seizures ( $P = 0.01$ ).

### Discussion and Conclusion

The findings of the present study showed that miR-23a expression and MDA levels in the hippocampus of epileptic rats were significantly increased, while the activity of the antioxidant enzyme CAT was significantly decreased. These hippocampal changes were associated with an increase in seizure frequency in epileptic rats. Furthermore, eight weeks of moderate-intensity aerobic training significantly increased hippocampal CAT activity and significantly reduced MDA levels and seizure frequency. In addition, the results indicated that eight weeks of aerobic training reduced hippocampal miR-23a expression in epileptic rats; however, this reduction did not reach statistical significance, suggesting the need for further research. Taken together with previous findings, the results of this study suggest that aerobic exercise may play a beneficial role in improving and controlling epilepsy, with reduction of oxidative stress being one of the possible mechanisms underlying its protective effects.

### Originality/Value

### Research Limitations/Implications

### Ethical Considerations

**Compliance with ethical guidelines**

**Funding**

**Authors' contribution**

**Conflict of interest**

**Acknowledgments**

## References



## تاثیر هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط بر بیان MicroRNA-23a، سطوح MDA و فعالیت آنزیم CAT در هیپوکمپ رت های مبتلا به صرع

صبح رضاقلی<sup>۱</sup>، محمدرضا کردی<sup>۲\*</sup>، امیرحسین صفار کهنه قوچان<sup>۲</sup>، رضا نوری<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۲۸ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۵/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۲۹

### چکیده

**هدف:** استرس اکسیداتیو یکی از عوامل مهم در تشدید وضعیت صرع و تحریک پذیری نورون ها و افزایش حملات می باشد. در این پژوهش قصد داریم به بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان miR-23a، سطوح MDA و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی CAT در هیپوکمپ و تعداد حملات در رت های مبتلا به صرع بپردازیم.

**روش شناسی:** در این مطالعه، ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار (۴-۶ هفته ای) به چهار گروه شامل گروه سالم، گروه شم، گروه صرع، و گروه صرع + تمرین هوازی تقسیم شدند. برای القای صرع، تزریق درون هیپوکمپی کاینیک اسید به کار رفت و شدت حملات بر اساس مقیاس راسین ارزیابی گردید. پروتکل تمرینی شامل ۸ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط، پنج جلسه در هفته و هر جلسه به مدت ۴۰ دقیقه بود. چهل و هشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، حیوانات با کتامین و زایلازین بیهوش و بافت هیپوکمپ آن ها استخراج شد. به منظور سنجش فعالیت آنزیم CAT و سطوح MDA از روش الایزا استفاده گردید. همچنین برای بررسی بیان miR-23a روش Real-time PCR به کار گرفته شد.

**یافته ها:** فعالیت ورزشی هوازی سطوح MDA ( $P = ۰/۰۰۷$ ) و بیان miR-23a ( $P = ۰/۵۳$ ) را در هیپوکمپ رت های مبتلا به صرع کاهش داد و فعالیت آنزیم CAT را ( $P = ۰/۰۲$ ) افزایش داد. تعداد حملات نیز به طور معنی داری در رت های مبتلا به صرع کاهش یافت ( $P = ۰/۰۱$ ).

**نتیجه گیری:** هشت هفته فعالیت ورزشی منظم میتواند منجر به کاهش در پرواکسیداسیون چربی ها و همینطور افزایش در آنزیم آنتی اکسیدانی CAT در هیپوکمپ شود و این بهبود در وضعیت آنتی اکسیدانی با کاهش تعداد تشنج همراه بود.

**واژه های کلیدی:** استرس اکسیداتیو، تشنج، فعالیت ورزشی منظم، پراکسیداسیون لپید

۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، پردیس ارس دانشگاه تهران، تبریز، ایران.

۲ استاد، گروه فیزیولوژی فعالیت ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، ایران.

\*نویسنده مسئول: محمدرضا کردی. ایمیل: mrkordi@ut.ac.ir

۳ استادیار، گروه فیزیولوژی فعالیت ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، ایران.

۴ دانشیار، گروه فیزیولوژی فعالیت ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، ایران.

**استناد:** رضا قلی، صباح، کردی، محمد رضا؛ صفار کهنه قوچان، امیرحسین و نوری، رضا. (۱۴۰۴). تاثیر هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط بر بیان MicroRNA-23a، سطوح MDA و فعالیت آنزیم CAT در هیپوکمپ رت های مبتلا به صرع. نشریه سوخت و ساز و فعالیت ورزشی، ۱۵ (۱)، ۱۲۰-۱۳۸.

DOI: <https://doi.org/10.22124/jme.2025.30771.412>

### نوآوری پژوهش و پیام کلی

در این بخش در چند جمله کوتاه، نوآوری پژوهش را بیان کنید و پیام کلی پژوهش را بنویسید



Copyright © 2025 The Author(s);

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution NonCommercial 4.0 International License (CC-BY-NC): <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode.en>,

which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

Publisher: University of Guilan

#### مقدمه

صرع<sup>۱</sup> یکی از بیماری های شایع سیستم عصبی میباشد و در میان بیماری های نورولوژیک<sup>۲</sup> از نظر شیوع جایگاه پنجم را به خود اختصاص داده است. میزان شیوع آن در جهان تقریباً ۵۰۰۰۰۰۰ نفر میباشد. از آنجایی که این اختلال یک بیماری واحد نیست و مجموعه ای مشکلات پیچیده عصبی میباشد، تعریف واحدی برای آن وجود ندارد. یکی از تعاریف این بیماری بر اساس ناحیه درگیر میباشد، که شایع ترین نوع آن صرع لوب تمپورال (TLE)<sup>۳</sup> است که بیشترین پتانسیل برای تبدیل به صرع مقاوم به درمان را دارد. مقاومت به دارو تحت عنوان، عدم پاسخ به حداقل داروی ضد صرع که به درستی انتخاب شده باشند تعریف میشود.

یکی از عوامل مهم زمینه ساز بیماری صرع میتواند استرس اکسیداتیو (OS)<sup>۴</sup> باشد. درواقع استرس اکسیداتیو به معنی تجمع بیش از گونه های اکسیژن فعال (ROS)<sup>۵</sup> و یا گونه های نیتروژن (RNS)<sup>۶</sup> فعال میباشد. که این عدم تعادل و افزایش ناشی از اختلال در عملکرد میتوکندری در شرایط نیاز شدید به انرژی میباشد. این تغییرات می تواند به عملکرد سلولی به دلیل تغییر در ساختار و عملکرد آنزیم های مختلف بدن مانند غشای سلولی آسیب برساند که منجر به اختلال در عملکرد های سلول و گیرنده های سلولی شود (۱-۳).

مطالعات وجود یک رابطه بین استرس اکسیداتیو و حملات صرعی را نشان میدهند. بعد از وقوع حملات افزایش چشم گیری در برداشت گلوکز توسط نورون ها مشاهده میشود همچنین جریان خون مغزی همگام تا نیازهای افزایش یافته متابولیکی و تولید گلوکز افزایش میابد که منجر به افزایش لاکتات و چرخه تری کربوکسیلیک اسید میشود (TCA)<sup>۷</sup> که این افزایش عملکرد میتوکندری و زنجیره تنفسی منجر به افزایش سوپراکسیدها و استرس اکسیداتیو میشود (۴). از طرف دیگر مغز، از جمله هیپوکمپ<sup>۸</sup>، اندامی است که به شدت با استرس اکسیداتیو حساس میباشد، چنانچه مطالعات نشان داده اند سطوح افزایش یافته ROS در هیپوکمپ میتواند منجر به آسیب به نورون های این ناحیه و مختل شدن حافظه و یادگیری شود. علاوه بر این تغییرات در میتوکندری ناشی از استرس اکسیداتیو میتواند منجر به آسیب DNA و RNA، چربی های سلول، و همچنین هموستاز<sup>۹</sup> کلسیم و گلوتامات شود که همه اینها میتواند منجر به بیش فعالی نورون های هیپوکمپ شود (۱). پرواکسیداسیون<sup>۱۰</sup> چربی ها که به طور عمومی یعنی تبدیل چربی های غشا سلولی به گونه های فعال که این عمل میتواند منجر به از بین رفتن و مرگ نورون شود. غشا درونی میتوکندری نیز

<sup>1</sup> Epilepsy

<sup>2</sup> neurologic

<sup>3</sup> Temporal lob epilepsy

<sup>4</sup> Oxidative stress

<sup>5</sup> Reactive oxygen species

<sup>6</sup> Reactive nitrogen species

<sup>7</sup> Tricarboxylic acid cycle

<sup>8</sup> Hippocampus

<sup>9</sup> Homeostasis

<sup>10</sup> Peroxidation

سرشار از اسیدهای چرب چندگانه می باشد که به شدت به ROS نفوذ پذیر هستند (۵). پرواکسیداسیون چربی ها میتواند منجر به تغییر نفوذپذیری غشا، افزایش کلسیم درون سلولی و متعاقبا بیش فعالی<sup>۱</sup> نورون و متعاقبا وقوع حملات در نورون های هیپوکمپ شود، که در صورت وقوع مکرر حملات میتواند منجر به مرگ سلول شود (۶). مطالعات نشان میدهند سطوح MDA که محصول پرواکسیداسیون اسید ارشیدونیک می باشد، بعد از وقوع حملات<sup>۲</sup> در هیپوکمپ افزایش میابد (۷). افزایش تولید H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>، پرواکسیداسیون لیپدها، که منجر به افزایش MDA و می شود، و همچنین آسیب mtDNA پس از وقوع حملات در هیپوکمپ مشاهده شده است (۸، ۹). همچنین در مطالعات دیگر نیز آثار محافظتی آنتی اکسیدان ها مثل ویتامین E و C در برابر حملات نشان داده شده است. باروز و همکاران<sup>۳</sup> (۲۰۰۷) نشان دادند که تزریق درون صفاقی ویتامین E، ۳۰ دقیقه قبل از القا صرع به واسطه پیلوکارپین<sup>۴</sup> موجب افزایش آنزیم کاتالاز در هیپوکمپ رت ها و کاهش در تعداد حملات شد (۱۰). بیماران مبتلا به صرع مقاوم به دارو نسبت به بیمارانی که فقط یک یا دو نوع داروی ضد صرع دریافت کرده بودند، استرس اکسیداتیو بیشتری را تجربه کردند (۱۱).

میکرو RNA ها (miRNAs) مولکول های RNA تک رشته ای و غیرکدکننده هستند که به صورت منفی، بیان ژن را در سطح پس از رونویسی در سلول ها تنظیم می کنند (۱۲). بیان تنظیم نشده miRNAs با طیف گسترده ای از بیماری مرتبط بوده است. شواهد فزاینده ای وجود دارد که نشان می دهد miRNAs نقش بسیار مهمی در بروز و پیشرفت انواع مختلفی از اختلالات عصبی، از جمله صرع، ایفا می کنند. تغییرات در بیان miRNAs در ناحیه ی کانونی تشنج، هم در مدل های آزمایشگاهی TLE و هم در بیماران مبتلا به TLE مشاهده شده است (۱۳). استرس اکسیداتیو بر میزان بیان چندین miRNAs تأثیر می گذارد و به طور متقابل، miRNAs می توانند بسیاری از ژن های درگیر در پاسخ به استرس اکسیداتیو را تنظیم کنند. هم استرس اکسیداتیو و هم شبکه های تنظیمی miRNAs بر فرآیندهای بیماری های عصبی، از جمله صرع، تأثیرگذار هستند. miR-23a یکی از رایج ترین miRNAs است که در آسیب های نورونی هیپوکامپ و اختلال در حافظه فضایی در یک مدل تجربی TLE نقش دارد. پژوهش ژو<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که بیان miR-23a پس از القای صرع در هیپوکامپ موش های مبتلا به TLE القاشده با کاینیک اسید افزایش می یابد. علاوه بر این، این افزایش در بیان miR-23a با آسیب اکسیداتیو در هیپوکامپ همراه بود. همچنین، با مهار بیان miR-23a از طریق آنتاگومیرهای miR-23a، می توان استرس اکسیداتیو هیپوکامپ و آسیب های نورونی را به طور قابل توجهی بهبود بخشید. بنابراین، هدف قرار دادن miR-23a در هیپوکمپ بیماران مبتلا به صرع ممکن است راهبردی نوین برای محافظت در برابر آسیب های نورونی هیپوکامپ در بیماران مبتلا به TLE فراهم کند (۱۴).

<sup>1</sup> Hyperexcitability

<sup>2</sup> seizure

<sup>3</sup> Barros D et al.

<sup>4</sup> pilocarpine

<sup>5</sup> Zhu

پژوهش‌ها نشان داده‌اند فعالیت ورزشی تأثیر قابل توجهی بر بیان میکرو miRNAs در سیستم عصبی مرکزی دارد و می‌تواند به‌طور بالقوه بر سلامت نورون‌ها و عملکرد شناختی تأثیر بگذارد. تمرینات ورزشی می‌تواند با تنظیم بیان miRNAs و کاهش استرس اکسیداتیو در بهبود نشانگان بیماری صرع موثر واقع شود. علاوه بر این تمرینات ورزشی می‌تواند باعث بهبود وضعیت التهاب عصبی<sup>۱</sup> (۱۵)، وضعیت روانی (۱۶)، یادگیری، کیفیت زندگی و حافظه (۱۷-۱۹) در بیماران مبتلا به صرع شود. تمرینات هوازی می‌توانند باعث کاهش وضعیت اکسیداتیو و افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی اکسیدانی هم‌راستا با کاهش در تعداد حملات و علائم صرع در رت‌های مبتلا به صرع شود (۲۰). تمرینات هوازی می‌تواند منجر به افزایش آنزیم‌هایی همچون کاتالاز (CAT)<sup>۲</sup> شود که احتمالاً بتوان بخشی از آثار مثبت فعالیت ورزشی بر بهبود علائم صرع را در این بیماران کاهش در وضعیت اکسیداتیو نسبت داد (۲۱). در همین راستا، کیم<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند، هشت هفته تمرینات شنا با شدت کم به صورت سه بار در هفته و هر جلسه به مدت ۳۰ دقیقه به همراه مصرف ویتامین C می‌تواند به طور معنی داری سطوح استرس اکسیداتیو را در هیپوکمپ رت‌های مبتلا به صرع به واسطه کاینیک اسید<sup>۴</sup> کاهش دهد. (۲۲). با توجه به نتایج مطالعات پیشین به نظر می‌رسد که تمرینات ورزشی می‌تواند منجر به بهبود وضعیت بیماری صرع شود و احتمالاً بخشی از این مکانیسم مربوط به حفظ تعادل وضعیت اکسیداتیو مغز می‌باشد، که برای اثبات این موضوع نیاز به مطالعات بیشتری می‌باشد. ما در این مطالعه قصد داریم که بررسی تأثیر هشت هفته تمرینات هوازی با شدت متوسط در رت‌های مبتلا به صرع به واسطه کاینیک اسید، بر بیان miR-23a، سطوح MDA و فعالیت آنزیم CAT بپردازیم.

#### روش‌شناسی

۲۲ سر رت نر ویستار از انستیتو پاستور با میانگین سنی ۶-۸ هفته و میانگین وزنی  $14/96 \pm 266/62$  خریداری شد. رت‌ها به صورت تصادفی به چهار گروه: کنترل سالم (CON, N=8)، صرع (EPI, N=8) که تزریق کاینیک اسید داشتند، صرع + فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط<sup>۵</sup> (EPI+MICT, N=8) که بعد از تزریق هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی انجام دادند و گروه شم (SHAM, N=8) که فقط تزریق سرم داشتند، تقسیم شدند. حیوانات در دمای ۲۲ تا ۲۶ درجه و رطوبت ۵۵٪ تا ۶۵٪ و چرخه نور و تاریکی ۱۲ ساعته نگه‌درای شدند. دسترسی به آب و غذا نیز آزادانه بود. این پژوهش توسط کمیته اخلاق دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه تهران مورد تایید قرار گرفت.

الفا صرع:

<sup>1</sup> Neuroinflammation

<sup>2</sup> Catalase

<sup>3</sup> Kim et al.

<sup>4</sup> Kainic acid

<sup>5</sup> Moderate intensity continuous training

بعد از یک هفته سازگاری با محیط، القا صرع به واسطه تزریق درون هموکپ<sup>۱</sup> کاینیک اسید با دوز یک میکروگرم به صورت استریوتکس<sup>۲</sup> انجام شد. برای بررسی القا صرع از مقیاس راسین استفاده شد. در صورت القا موفق حیوان ۳۰ الی ۴۰ دقیقه بعد از انجام تزریق اولین حمله را نشان می‌دهد. فقط یک سر رت بعد از القا مرد که نرخ مرگ و کیر ناشی از القا ۰.۳٪ بود. شدت حملات بر اساس مقیاس راسین<sup>۳</sup> امتیاز دهی شد: مرحله یک؛ خیره شدن، مرحله دو؛ حرکات خودکار صورت، مثل؛ لرزش (لرزش سگ خیس)، بو کشیدن (حرکات دماغ)، ترشح بزاق، جویدن و حرکات سر، مرحله سه؛ تمامی وقایع مرحله دو به همراه کلونوس اندام جلویی و لرزیدن مرحله چهار؛ لرزیدن ها و کلونوس اندام جلویی به طور مکرر و افتادن، مرحله پنجم؛ تشنج های تونیک-کلونیک به همراه دویدن (۲۳).

#### پروتکل تمرینی:

پروتکل تمرینی هوازی به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته، ۴۰ دقیقه به صورت تداومی با شدت متوسط (۶۰ درصد  $V_{max}$ ) انجام شد. برای تعیین  $V_{max}$  پس از گرم کردن با سرعت ۱۲ متر در دقیقه با درجه ۰ درصد به مدت ۵ دقیقه، سرعت تردمیل هر ۳ دقیقه به میزان ۳ متر در دقیقه افزایش یافت تا زمانی که حیوانات از دویدن خودداری کردند. به منظور انجام تمرینات به صورت پیشرونده،  $V_{max}$  یک بار قبل از شروع تمرینات (هفته صفر) و یک بار در انتهای هفته چهارم (هفته چهار) اندازه گیری شد و سرعت جدید بر اساس آن تنظیم شد. گرم کردن و سرد کردن شامل پنج دقیقه مطابق با مطالعه ریکاردو آریدا بود (۲۴).

#### سنجش سطوح MDA به روش الایزا (ELISA)<sup>۴</sup>:

برای MDA از کیت الایزا (ZellBio GmbH Germany) استفاده شد. طبق دستورالعمل کشور سازنده برای محاسبه ELISA استفاده شد. برای لیز کردن بافت هیپوکمپ 50mg بافت را هموژن کردیم. 500μL بافر رپیا به بافت اضافه و بافت را با آن لیز کردیم. سپس نمونه ها را به مدت یک ساعت درون یخچال قرار دادیم. بعد از یک ساعت نمونه ها را به مدت ۱۵ دقیقه با دور 10000RPM سانتریفیوژ کردیم. محلول رویی را به میکروتیوب جدید منتقل و در فریزر -80°C نگهداری شد. 50μL نمونه یا محلول استاندارد به هر میکروتیوب اضافه شد. 50μL محلول شماره چهار به هر میکروتیوب اضافه و میکس شد. 1ml از محلول کروموفور به هر میکروتیوب اضافه شد و میکروتیوب ها به مدت یک ساعت درون آبجوش قرار داده شد. سپس میکروتیوب ها را درون ظرف یخ خنک کردیم و به مدت ۱۰ دقیقه با دور 4000RPM سانتریفیوژ شد. 200μL از محلول رویی صورتی رنگ به درون چاهک میکروپلیت منتقل شد. جذب نمونه ها در طول موج 535nm اندازه گیری و براساس منحنی استاندارد بدست آمده، غلظت نمونه مورد نظر را محاسبه شد.

#### سنجش فعالیت آنزیم CAT به روش الایزا:

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از کیت الایزا ZellBio GmbH (Germany) محلول های مورد نیاز و محلول های استاندارد آماده شد. تمامی نمونه ها و محلول های باید هم دمای محیط باشند. 10μL از هر نمونه درون هر چاهک میکروپلیت اضافه شد. 10μL نرمال سالین بعنوان بلانک (شاهد) درون یک چاهک اضافه شد. سپس 100μL محلول شماره ۱ و 10μL محلول شماره ۲ به تمامی چاهک ها اضافه و میکس شد. میکروپلیت را دقیقاً برای ۶۰ ثانیه در 37°C انکوبه شد. 100μL محلول شماره ۳ و 10μL محلول شماره ۴ به هر چاهک اضافه و

<sup>1</sup> Intrahippocampal

<sup>2</sup> Stereotaxic

<sup>3</sup> Racine scale

<sup>4</sup> nzyme-Linked Immunosorbent Assay

میکس شد. جذب نمونه ها در طول موج 405nm با دستگاه الیزا ریدر اندازه گیری شد. براساس فرمول اندازه فعالیت آنزیم کاتالاز محاسبه شد.

#### سنجش MicroRNA-23a

برای سنجش بیان miR-23a، از روش Stem-loop RT-qPCR استفاده شد. ابتدا RNA کل با استفاده از ترايزول استخراج و سپس cDNA با پرایمر Stem-loop اختصاصی (مکمل ناحیه ۳' miR-23a) و کیت HyperScript RT premix سنتز گردید. واکنش Real-time PCR با پرایمر Forward اختصاصی (متناظر با ناحیه ۵' miR-23a) و پرایمر Reverse جهانی (مکمل توالی Stem-loop) در دستگاه ریل تایم انجام شد. از SYBR Green برای تشخیص محصولات استفاده گردید و داده ها پس از نرمالایزاسیون با U6 snRNA به عنوان کنترل داخلی، با روش  $\Delta\Delta Ct$  تحلیل شدند. تمام واکنش ها در سه تکرار فنی اجرا و اختصاصی بودن محصولات با منحنی ذوب تأیید گردید.

#### جدول ۱. توالی پرایمرها

| نام پرایمر          | توالی نکلئوتیدی                                                     |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------|
| U6                  | Forward: CTCGCTTCGGCAGCACATATACT<br>Reverse: ACGCTTCACGAATTTGCGTGTC |
| mir23a              | Forward: GGGGTTACTGGGGATGG<br>Reverse: AACTGGTGTCGTGGAGTC           |
| Stem loop RT primer | CTCAACTGGTGTCGTGGAGTCGGCAATTCAGTTGACnnnnnnnn                        |

#### تجزیه تحلیل آماری:

در این پژوهش از میانگین و انحراف استاندارد برای توصیف داده ها استفاده شد، نرمال بودن توزیع داده ها با آزمون شاپیروویلک<sup>۱</sup> و همگنی واریانس ها با آزمون لون<sup>۲</sup> بررسی شد. برای بررسی تفاوت سطوح MDA، فعالیت آنزیم CAT و بیان mir23a در بین گروه ها از آزمون پارامتریک آنوای یک طرفه و برای مقایسه دو به دو از آزمون تعقیبی توکی<sup>۳</sup> سطح معناداری ۰.۰۵ در نظر گرفته شد. تمامی محاسبات با نرم افزار SPSS21 انجام شد و نمودار ها با نمودار PRISM رسم شد.

#### یافته ها

جدول ۱ یافته های توصیفی وزن رت ها را در طی دوره پژوهش نشان می دهد.

جدول ۲. آمار توصیفی: میانگین و انحراف معیار وزن رت ها در طول پژوهش

<sup>1</sup> Shapiro Wilk

<sup>2</sup> Leven

<sup>3</sup> Tukey

| CON                | SHAM           | EPI            | MICT           |
|--------------------|----------------|----------------|----------------|
| ۱۶۷/۶۲ ± ۱۴/۹۶     | ۲۶۴/۸۷ ± ۳۹/۳۹ | ۲۲۷/۵ ± ۳۶/۰۶  | ۲۲۵/۸۷ ± ۳۵/۴۲ |
| قبل از شروع پروتکل |                |                |                |
| ۲۶۹/۷۵ ± ۲۹/۴۲     | ۲۷۰/۷۵ ± ۳۲/۵۱ | ۲۲۳/۱۲ ± ۸۴/۷۲ | ۲۸۳/۱۲ ± ۳۹/۳۵ |
| هفته هشتم          |                |                |                |

هشت هفته تمرینات هوازی با شدت متوسط تعداد تشنج را در رت های مبتلا به صرع کاهش میدهد.

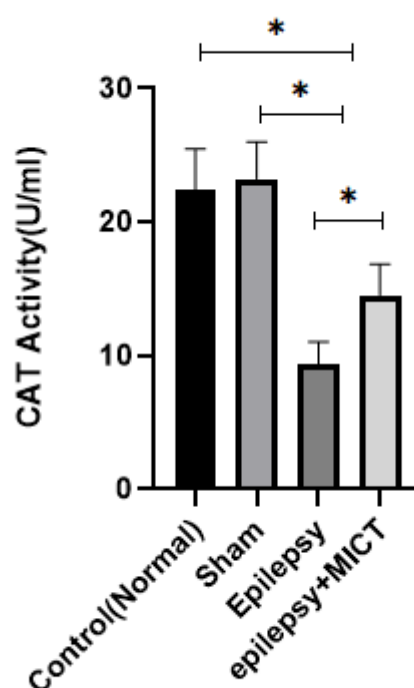
نتایج آزمون تی مستقل نشان داد که فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط در مقایسه با گروه صرع تعداد تشنج را به طور معنی داری کاهش داد. نتایج تی مستقل در جدول ۲ ارائه داده شده است.

جدول ۲- میانگین تشنج ها در هفته هشتم دو گروه بیمار و MICT

| EPI          | MICT        | پروتکل های فعالیت ورزشی |
|--------------|-------------|-------------------------|
| ۱۷.۴۷۷±۴.۶۹۳ | ۱۰/۹۵ ± ۳/۹ | تعداد تشنج              |
|              | ۲/۸۰        | t                       |
|              | ۰/۰۱        | P                       |

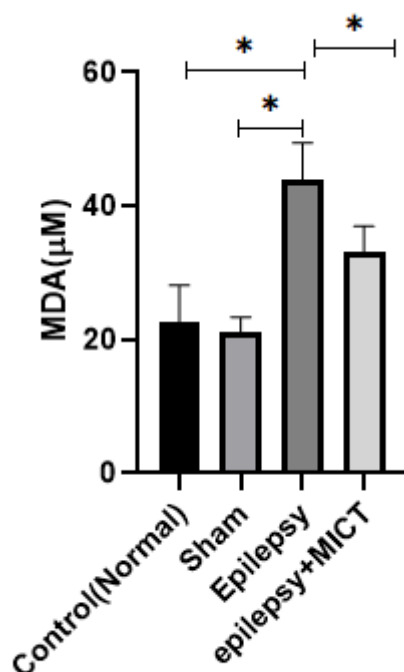
هشت هفته تمرینات هوازی با شدت متوسط فعالیت آنزیم CAT را در رت های مبتلا به صرع کاهش میدهد

نتایج آزمون آنوای یک طرفه نشان داد که فعالیت آنزیم CAT بین گروه ها تفاوت معنی داری (  $P= ۰/۰۱$  ) و (  $F=۳۴/۶۷$  ) داشت. در گروه بیمار سطوح این آنزیم در مقایسه با گروه کنترل (  $P= ۰/۰۰۱$  ) و گروه شم (  $P= ۰/۰۰۱$  ) کاهش معنی داری را نشان داد، در گروه تمرین، فعالیت ورزشی هوازی سطوح آنزیم CAT را به طور معنی داری (  $P= ۰/۰۲$  ) افزایش داد.



شکل ۱. تغییرات فعالیت CAT در هیپوکمپ گروه های پژوهش.  $p \leq 0.05$ \*  
هشت هفته تمرینات هوازی با شدت متوسط سطوح MDA را در رت های مبتلا به صرع کاهش می دهد

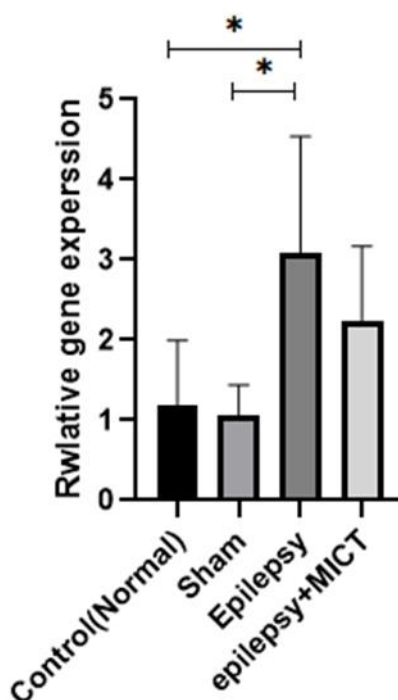
نتایج آزمون آنوای یکطرفه نشان داد بین گروه ها تفاوت معنی داری ( $F=30/13$   $P=0/001$ ) وجود دارد. سطوح MDA در گروه بیماری صرع در مقایسه با گروه کنترل ( $P=0/001$ ) و گروه شم ( $P=0/001$ ) افزایش معنی داری را نشان داد و در گروه تمرین بعد از انجام هشت هفته تمرینات هوازی سطوح MDA به طور معنی داری کاهش یافت ( $P=0/007$ ).



شکل ۲. تغییرات سطوح MDA در هیپوکمپ گروه های پژوهش.  $p \leq 0.05$  \*

هشت هفته تمرینات هوازی با شدت متوسط بیان MicroRNA-23a را در هیپوکمپ رت های مبتلا به صرع کاهش می دهد

نتایج آزمون آنوای یکطرفه نشان داد بین گروه ها تفاوت معنی داری ( $P = 0.01$  و  $F = 4.72$ ) وجود دارد. بیان MicroRNA-23a در هیپوکمپ گروه بیماری صرع در مقایسه با گروه شم ( $P = 0.02$ ) و گروه کنترل ( $P = 0.03$ ) افزایش معنی داری را نشان داد و در گروه تمرین بعد از انجام هشت هفته تمرینات هوازی بیان MicroRNA-23a کاهش یافت اما این کاهش معنی دار نبود ( $P = 0.53$ ).



شکل ۳. تغییرات بیان mir32a در هیپوکمپ گروه های پژوهش.  $p \leq 0.05$  \*

#### بحث

یافته های پژوهش حاضر نشان داد که بیان miR-23a و سطوح MDA در هیپوکمپ موش های مبتلا به صرع به طور معنی داری افزایش و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی CAT به طور معنی داری کاهش یافت که این تغییرات در هیپوکمپ با افزایش تشنج در موش های مبتلا به صرع همراه بود. هرچند مطالعات هنوز به طور دقیق نشان نداده اند که استرس اکسیداتیو علت حملات صرعی میباشد و یا معلول آن اما آن چه که تا کنون به اثبات رسیده نشان میدهد فعالیت آنزیمی که منجر به تجمع ROS/RNS میشود میتواند منجر به اختلال در عملکرد میتوکندری شود و این اختلالات در نهایت میتواند تاثیر مستقیمی بر آسیب و مرگ سلولی ناشی از حملات بگذارد (۲۵، ۲۶) از طرفی وقوع مکرر حملات منجر به افزایش استرس اکسیداتیو شده که می توان گفت محصل این مجموعه از مشکلات شکل گیری یک چرخه باطل می باشد (۲۷، ۲۸). در همین راستا ژاو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند miR-23a در موش های TLE القا شده با اسید کانیک (KA) در هیپوکامپ افزایش می یابد. علاوه بر این، افزایش miR-23a با آسیب اکسیداتیو هیپوکامپ، آسیب های عصبی و اختلال حافظه فضایی در موش های TLE همراه است. همچنین افزایش بیان miR-23a توسط آگومیر<sup>۲</sup> miR-23a استرس اکسیداتیو هیپوکامپ، آسیب های نورونی و اختلال حافظه فضایی را در موش های TLE تشدید کرد (۱۴).

<sup>1</sup> Zhu

<sup>2</sup> agomir

CAT یک آنزیم آنتی اکسیدانی بسیار قوی میباشد که میتواند  $H_2O_2$  را به آب و اکسیژن تبدیل کند و از آسیب سلولی جلوگیری می کند و MDA که حاصل پرواکسیداسیون لیپیدها میباشد، یک عامل بسیار خطرناک برای شروع آسیب های سلولی می باشد (۲۹). هم سو با بافته های پژوهش حاضر سویک<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۲) نیز افزایش سطوح MDA سرمی را در بیماران مبتلا به صرع را نشان دادند (۳۰). نتایج مطالعه شهتا و همکاران<sup>۲</sup> (۲۰۲۲) نیز وجود یک رابطه مستقیم بین سطوح MDA و فرکانس حملات را نشان داد (۳۱). افزایش استرس اکسیداتیو از دومسیر منجر به افزایش تعداد تشنج در صرع می شود. اول اینکه، تغییر ناشی از ROS در ساختار گیرنده های گلوتمات، کاهش عملکرد وابسته به انرژی ناقل های گلوتمات<sup>۳</sup> و از بین رفتن نورون های GABAergic در هیپوکامپ و شکنج دنداندار می شود که در نهایت تحریک پذیری نورونی و حساسیت به تشنج را افزایش می دهد (۳۲). دوم، افزایش استرس اکسیداتیو باعث فعال شدن NF- $\kappa$ B و انتقال آن به هسته و فعال سازی رونویسی ژن های هدف تعدیل کننده سیستم ایمنی، مانند سیتوکین های پیش التهابی  $TNF-\alpha$ ،  $IL-1\beta$  و  $IL-6$  را فراهم می کند که در ارتقاء تحریک پذیری عصبی و رویدادهای ایکتوژنیک<sup>۴</sup> نقش دارند (۳۳). بنابراین به نظر می رسد کنترل استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به صرع می تواند نقش بسیار مهمی در کنترل تشنج داشته باشد. در دهه های گذشته توجهات زیادی به سمت آثار فعالیت ورزشی بر بیماری صرع جلب شده است و مطالعات متعددی آثار مثبت فعالیت ورزشی بر کاهش تعداد حملات، بهبود علائم صرع و بهبود علائم روانی همراه صرع همچون کیفیت زندگی، حافظه و یادگیری را نشان داده اما هنوز مکانیسم دقیق اثر گذاری فعالیت ورزشی ناشناخته است (۳۴). فعالیت ورزشی می تواند مسیر Nrf2 را فعال کند، که نقش مهمی در دفاع آنتی اکسیدانی سلولی و سلامت کلی ایفا می کند. فعالیت بدنی منظم، به ویژه فعالیت ورزشی هوازی، باعث آزاد شدن گونه های فعال اکسیژن (ROS) می شود که به نوبه خود فعال شدن Nrf2 را تحریک می کند. این فعال سازی منجر به افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی مثل سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و سایر پروتئین های محافظ سلولی می شود و به بدن کمک می کند تا بهتر با استرس اکسیداتیو مقابله کند (۳۵).

یافته های پژوهش حاضر نیز نشان داد که انجام هشت هفته تمرینات هوازی با شدت متوسط فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی CAT را در هیپوکمپ رت های مبتلا به صرع افزایش و سطوح MDA و تعداد تشنج را کاهش داد. نتایج ما هم راستا با مطالعات پیشین بود که کاهش وضعیت اکسیداتیوی با انجام فعالیت هوازی را در بیماران مبتلا به صرع نشان دادند. در مطالعه هنریک و همکاران<sup>۵</sup> (۲۰۱۳) نشان داده شد ۳۰ روز فعالیت ورزشی هوازی در رت های مبتلا به صرع، باعث بهبود وضعیت بیماری شد. در این مطالعه برای بررسی وضعیت تعداد حملات و امواج EEG رت ها مورد بررسی قرار گرفت نتایج هنریک هم راستا با نتایج مطالعه ما نشان دهنده کاهش پرواکسیداسیون لیپیدها، و افزایش در آنزیم های آنتی اکسیدانی همچون SOD و CAT در هیپوکمپ رت های مبتلا به صرع بود (۲۰). در مطالعه آیهان و همکاران (۲۰۱۸) که به بررسی تاثیر تمرینات هوازی پیش از وقوع صرع پرداخته شده بود. مطالعه آنها شامل هشت هفته تمرینات تردمیل به صورت پنج بار در هفته بود و پس از آن القا صرع صورت گرفت. نتایج نشان داد که تمرینات هوازی میتواند منجر به افزایش دوره کمون<sup>۶</sup> و وقوع اولین حمله صرعی پس از القا شود همچنین سطوح سرمی آنزیم های آنتی اکسیدانی همچون CAT در گروه فعالیت ورزشی بطور معنی داری بالاتر بود، (۳۶). در مطالعه کیم و همکاران (۲۰۱۳) که

<sup>1</sup> Çevik M et al.

<sup>2</sup> Shehta N et al.

<sup>3</sup> energy-dependent action of glutamate transporters

<sup>4</sup> ictogenic events

<sup>5</sup> Henric et al.

<sup>6</sup> Latency phase

شامل هشت هفته، جمعا ۴۰ جلسه، تمرینات شنا بود، به بررسی اثر هم افزایی فعالیت ورزشی و آنتی اکسیدان رزوراترول پرداخته شده بود. نتایج این مطالعه آشکار ساخت که تمرینات شنا به همراه مصرف رزوراترول میتواند باعث کاهش نرخ مرگ و میر، شدت حملات و همچنین افزایش در آنزیم های آنتی اکسیدانی SOD و CAT در هیپوکمپ گروه تمرین + رزوراترول<sup>۱</sup> نسبت به سایر گروه ها شد (۲۱). در مطالعه دیگری از همین محقق در سال ۲۰۱۶ که تاثیر تمرینات هوازی با شدت پایین به همراه ویتامین C را مورد بررسی قرار داده بود. تمرینات سه بار در هفته و هر جلسه به مدت ۳۰ دقیقه به مدت هشت هفته انجام شد. در این مطالعه نیز گروه تمرین ورزشی + آنتی اکسیدان بیشترین کاهش در حملات و نرخ مرگ و میر و همچنین افزایش در آنزیم های آنتی اکسیدانی گلوتاتیون پرواکسیداز<sup>۲</sup> (GPX)، CAT و SOD در هیپوکمپ رت ها نشان داد (۲۲). میگونی و همکاران<sup>۳</sup> در سال ۲۰۲۰ نشان دادند که تمرینات تردمیل به مدت ۲۱ روز و به صورت شش بار در هفته در استفاده همزمان از داروی توپیرامات<sup>۴</sup> توانست اختلال شناختی حاصل از توپیرامات را کاهش دهد و آثار ضد تشنجی این دارو را تقویت کند. نتایج این مطالعه حاکی از کاهش در MDA و IL-1 $\beta$ ، و همچنین افزایش در آنزیم های آنتی اکسیدانی همچون GPX و SOD در هیپوکمپ رت های مبتلا به صرع بود (۳۷). تا کنون پژوهشی در مورد نقش فعالیت ورزشی بر بیان بیان miR23a در بیماری صرع انجام نشده است. پژوهش های جدید نشان می دهند که هدف قرار دادن miR-23a در مغز مبتلا به صرع می تواند یک استراتژی جدید برای محافظت در برابر آسیب های نورونی هیپوکامپ در بیماران مبتلا به صرع TLE ارائه دهد (۱۴). ژو و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند، مهار بیان miR-23a توسط آنتاگومیرهای miR-23a، استرس اکسیداتیو آسیب های عصبی هیپوکمپ رت های مبتلا به صرع TLE را کاهش داد (۱۴). یافته های پژوهش حاضر نشان داد که هشت هفته تمرینات هوازی با شدت متوسط بیان miR23a در هیپوکمپ رت های مبتلا به صرع کاهش داد البته که این کاهش از نظر آماری معنادار نبود و پژوهش های بیشتری در این رابطه نیاز است.

#### نتیجه گیری کلی و پیام مقاله

مکانیسم های صرع هنوز به طور دقیق مشخص نشده اند، اما مطالعات نشان دهنده این است که استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم های اثرگذار در این بیماری میباشد و همچنین استفاده از درمان هایی که باعث کاهش استرس اکسیداتیو میشود، در بهبود علائم بیماری صرع مثر ثمر واقع شده است. مطالعه ما نشان داد که هشت هفته تمرینات ورزشی میتواند منجر به کاهش در پرواکسیداسیون چربی ها و همینطور افزایش در آنزیم آنتی اکسیدانی CAT در هیپوکمپ می شود و این بهبود در وضعیت آنتی اکسیدانی همگام با کاهش تعداد حملات بود. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعات پیشین میتوان نتیجه گرفت که تمرینات هوازی میتواند در بهبود و کنترل بیماری صرع در این بیماران کمک کننده باشد و از جمله مکانیسم های اثرگذاری فعالیت هوازی در این روند، کاهش استرس اکسیداتیو می باشد.

#### محدودیت ها

محدودیت های پژوهش ذکر شود.

#### پیشنهاد برای مطالعات آتی

بر اساس محدودیت های پژوهش، پیشنهاد برای مطالعات آتی ذکر شود.

<sup>1</sup> Resveratrol

<sup>2</sup> Glutathione peroxidase

<sup>3</sup> Soleimani Meigoni et al.

<sup>4</sup> Topiramate

#### ملاحظات اخلاقی

#### رعایت دستورالعمل‌های اخلاقی

در خصوص دستورالعمل‌های اخلاقی که در مقاله حاضر رعایت شده بیان شود. کد اخلاقی ذکر شود.

#### منابع مالی

استفاده یا عدم استفاده از منابع مالی را اینجا ذکر کنید.

#### مشارکت نویسندگان

در این بخش میزان و نحوه مشارکت هر یک از نویسندگان را بنویسید.  
تضاد منافع را در اینجا ذکر کنید (تایید یا رد کنید)

#### تقدیر و تشکر

در این بخش قدردانی از افراد یا سازمان‌های یاری دهنده ارائه شود

#### References

۱. Aguiar CCT, Almeida AB, Araújo PVP, Abreu RND, Chaves EMC, Vale OCd, et al. Oxidative stress and epilepsy: literature review. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2012;2012(1):795259.
۲. Pearson-Smith JN, Patel M. Metabolic dysfunction and oxidative stress in epilepsy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(11):2365.
۳. Lee KH, Cha M, Lee BH. Neuroprotective effect of antioxidants in the brain. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(19):7152.
۴. Liang L, Ho Y, Patel M. Mitochondrial superoxide production in kainate-induced hippocampal damage. *Neuroscience*. 2000;101(3):563-70.
۵. Martinc B, Grabnar I, Vovk T. The role of reactive species in epileptogenesis and influence of antiepileptic drug therapy on oxidative stress. *Current Neuropharmacology*. 2012;10(4):328-43.
۶. Albano E, Bellomo G, Parola M, Carini R, Dianzani MU. Stimulation of lipid peroxidation increases the intracellular calcium content of isolated hepatocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 1991;1091(3):310-6.
۷. Morrow JD. The isoprostanes: their quantification as an index of oxidant stress status in vivo. *Drug metabolism reviews*. 2000;32(3-4):377-85.
۸. Waldbaum S, Patel M. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: a contributing link to acquired epilepsy? *Journal of bioenergetics and biomembranes*. 2010;42:449-55.
۹. Freitas RM, Vasconcelos SM, Souza FC, Viana GS, Fonteles MM. Oxidative stress in the hippocampus after pilocarpine-induced status epilepticus in Wistar rats. *The FEBS journal*. 2005;272(6):1307-12.
۱۰. Barros DO, Xavier SM, Barbosa CO, Silva RF, Freitas RL, Maia FD, et al. Effects of the vitamin E in catalase activities in hippocampus after status epilepticus induced by pilocarpine in Wistar rats. *Neurosci Lett*. 2007;416(3):227-30.
۱۱. Menon B, Ramalingam K, Kumar RV. Low plasma antioxidant status in patients with epilepsy and the role of antiepileptic drugs on oxidative stress. *Annals of Indian Academy of Neurology*. 2014;17(4):398-404.

- ۱۲ Wang J, Zhao J. MicroRNA Dysregulation in Epilepsy: From Pathogenetic Involvement to Diagnostic Biomarker and Therapeutic Agent Development. *Front Mol Neurosci*. 2021;14:650372.
- ۱۳ Henshall DC, Hamer HM, Pasterkamp RJ, Goldstein DB, Kjems J, Prehn JH, et al. MicroRNAs in epilepsy: pathophysiology and clinical utility. *The Lancet Neurology*. 2016;15(13):1368-76.
- ۱۴ Zhu X, Zhang A, Dong J, Yao Y, Zhu M, Xu K, Al Hamda MH. MicroRNA-23a contributes to hippocampal neuronal injuries and spatial memory impairment in an experimental model of temporal lobe epilepsy. *Brain Research Bulletin*. 2019;152:175-83.
- ۱۵ Ribarič S. Physical exercise, a potential non-pharmacological intervention for attenuating neuroinflammation and cognitive decline in Alzheimer's disease patients. *International journal of molecular sciences*. 2022;23(6):3245.
- ۱۶ Häfele CA, Freitas MP, da Silva MC, Rombaldi AJ. Are physical activity levels associated with better health outcomes in people with epilepsy? *Epilepsy & Behavior*. 2017;72:28-34.
- ۱۷ Allendorfer JB, Brokamp GA, Nenert R, Szaflarski JP, Morgan CJ, Tuggle SC, et al. A pilot study of combined endurance and resistance exercise rehabilitation for verbal memory and functional connectivity improvement in epilepsy. *Epilepsy & Behavior*. 2019;96:44-56.
- ۱۸ Feter N, Alt R, Häfele CA, da Silva MC, Rombaldi AJ. Effect of combined physical training on cognitive function in people with epilepsy: results from a randomized controlled trial. *Epilepsia*. 2020;61(8):1649-58.
- ۱۹ McAuley JW, Long L, Heise J, Kirby T, Buckworth J, Pitt C, et al. A prospective evaluation of the effects of a 12-week outpatient exercise program on clinical and behavioral outcomes in patients with epilepsy. *Epilepsy & Behavior*. 2001;2(6):592-600.
- ۲۰ Hrncic D, Rasic-Markovic A, Lekovic J, Krstic D, Colovic M, Macut D, et al. Exercise decreases susceptibility to homocysteine seizures: the role of oxidative stress. *International journal of sports medicine*. 2014;35(07):544-50.
- ۲۱ Kim H-j, Kim I-K, Song W, Lee J, Park S. The synergic effect of regular exercise and resveratrol on kainate-induced oxidative stress and seizure activity in mice. *Neurochemical research*. 2013;38:117-22.
- ۲۲ Kim H-j, Song W, Jin EH, Kim J, Chun Y, An EN, Park S. Combined low-intensity exercise and ascorbic acid attenuates kainic acid-induced seizure and oxidative stress in mice. *Neurochemical research*. 2016;41:1035-41.
- ۲۳ Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*. 1972;32(3):281-94.
- ۲۴ Arida RM, Sanabria ERG, da Silva AC, Faria LC, Scorza FA, Cavalheiro EA. Physical training reverts hippocampal electrophysiological changes in rats submitted to the pilocarpine model of epilepsy. *Physiology & behavior*. 2004;83(1):165-71.
- ۲۵ Patel MN. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and epilepsy. *Free radical research*. 2002;36(11):1139-46.
- ۲۶ Geronzi U, Lotti F, Grosso S. Oxidative stress in epilepsy. *Expert review of neurotherapeutics*. 2018;18(5):427-34.
- ۲۷ Puttachary S, Sharma S, Stark S, Thippeswamy T. Seizure-induced oxidative stress in temporal lobe epilepsy. *BioMed research international*. 2015;2015(1):745613.
- ۲۸ Méndez-Armenta M, Nava-Ruiz C, Juárez-Rebollar D, Rodríguez-Martínez E, Yescas Gómez P. Oxidative stress associated with neuronal apoptosis in experimental models of epilepsy. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2014;2014(1):293689.

- ۳۹ Sudha K, Rao AV, Rao A. Oxidative stress and antioxidants in epilepsy. *Clinica Chimica Acta*. 2001;303(1-2):19-24.
- ۳۰ Çevik M, Varol S, Yücel Y, Akıl E, Çelepkolu T, Arıkanoglu A, et al. Serum paraoxonase-1 activities and malondialdehyde levels in patients with epilepsy. *Dicle Med J*. 2012;39(4):557-60.
- ۳۱ Shehta N, Kamel AE, Sobhy E, Ismail MH. Malondialdehyde and superoxide dismutase levels in patients with epilepsy: a case-control study. *The Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*. 2022;58(1):51.
- ۳۲ Shin EJ, Jeong JH, Chung YH, Kim WK, Ko KH, Bach JH, et al. Role of oxidative stress in epileptic seizures. *Neurochem Int*. 2011;59(2):122-37.
- ۳۳ Parsons ALM, Bucknor EMV, Castroflorio E, Soares TR, Oliver PL, Rial D. The Interconnected Mechanisms of Oxidative Stress and Neuroinflammation in Epilepsy. *Antioxidants*. 2022;11(1):157.
- ۳۴ Cavalcante BRR, Improtá-Caria AC, Melo VH, De Sousa RAL. Exercise-linked consequences on epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2021;121(Pt A):108079.
- ۳۵ Done AJ, Traustadóttir T. Nrf2 mediates redox adaptations to exercise. *Redox Biol*. 2016;10:191-9.
- ۳۶ Cetinkaya A, Demir S, Orallar H, Kayacan Y, Beyazcicek E. The effects of treadmill exercise on oxidative stress in Mongolian gerbils with penicillin-induced epilepsy. *Experimental Biomedical Research*. 2018;1(1):10.
- ۳۷ Soleimani Meigoni Z, Jabari F, Motaghinejad M, Motevalian M. Protective effects of forced exercise against topiramate-induced cognition impairment and enhancement of its antiepileptic activity: molecular and behavioral evidences. *International Journal of Neuroscience*. 2022;132(12):1198-209.