

بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی پروپولیس ایرانی بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو مغز جنین موش‌های صحرایی تحت استرس مزمن پره‌ناتال

حمیدرضا ثامنی^۱ (Ph.D)، فاطمه کواکیان^{۱*} (M.Sc)، محمدحسن تبریزی امجد^۱ (M.Sc)، احمدرضا بندگی^۲ (Ph.D)، بهپور یوسفی^۱ (Ph.D)، عباس علی طاهریان^۳ (M.D)

۱- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، گروه علوم تشریح

۲- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، گروه بیوشیمی

۳- دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، گروه علوم تشریح

چکیده

سابقه و هدف: استرس‌های پره‌ناتال دارای اثرات گوناگونی بر ویژگی‌های ساختاری و سیستم آنتی‌اکسیدانی جنین بوده و اختلالاتی را در تنظیم محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال ایجاد می‌کنند. پروپولیس یکی از قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی پروپولیس ایرانی بر میزان شاخص‌های استرس اکسیداتیو ناشی از استرس محدودیت حرکتی پره‌ناتال در مغز جنین موش‌های صحرایی بود. مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی ماده باردار از نژاد ویستار، به ۶ گروه تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه بدون استرس + حلال پروپولیس، گروه استرس + حلال پروپولیس، گروه استرس + پروپولیس با دوز ۵۰ mg/kg، گروه استرس + پروپولیس با دوز ۱۰۰ mg/kg و گروه استرس + پروپولیس با دوز ۲۰۰ mg/kg. در گروه‌های سوم تا ششم، استرس محدودیت حرکتی به میزان ۶ ساعت در روز، از روز ۱۲ تا ۲۰ بارداری اعمال گردید. در روز ۲۱ بارداری پس از خون‌گیری و خارج نمودن مغز جنین‌ها، سطح کورتیکوسترون خون و میزان شاخص‌های MDA (مالون‌دی‌آلدئید)، قدرت آنتی‌اکسیدانی تام (FRAP)، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز (GPx) مغز اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: استرس مزمن پره‌ناتال باعث افزایش معنی‌دار سطح کورتیکوسترون خون و میزان شاخص استرس اکسیداتیو MDA و کاهش معنی‌دار میزان FRAP، SOD و GPx در بافت مغز جنین‌های ۲۱ روزه نسبت به گروه کنترل می‌شود. درمان موش‌های باردار تحت استرس مزمن با عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی، به‌طور معنی‌داری سطح کورتیکوسترون خون و MDA مغز را کاهش و همچنین میزان FRAP، SOD و GPx را در بافت مغز جنین‌ها افزایش داد.

نتیجه‌گیری: نتایج ما نشان داد که پروپولیس ایرانی قادر است از افزایش کورتیکوسترون خون و MDA مغز و کاهش عوامل آنتی‌اکسیدانی SOD، FRAP و GPx بافت مغز در شرایط استرس مزمن دوران پره‌ناتال جلوگیری کند.

واژه‌های کلیدی: پروپولیس، استرس پره‌ناتال، استرس اکسیداتیو، مغز جنین، موش صحرایی

مقدمه

استرس عبارت از هر واقعه‌ی تهدیدکننده‌ای است که باعث بروز پاسخ‌های رفتاری و فیزیولوژیک در فرد شود و

دارای تعاریف مختلفی در زمینه‌های علوم رفتاری، روان‌شناسی و فیزیولوژی می‌باشد [۱]. استرس‌های پره‌ناتال با بسیاری از ناهنجاری‌های روانی، رفتاری و شناختی در انسانو

دنبال استرس، باعث ایجاد استرس اکسیداتیو سلولی می‌شود [۱۲]. در استرس اکسیداتیو، سطح بالا و غیرطبیعی ROS (Reactive oxygen species)، مثل رادیکال‌های آزاد (هیدروکسیل، نیتريت اکسید، سوپراکسید) یا غیررادیکال H_2O_2 و پراکسیدلیپید، می‌توانند به مولکول‌های خاص و اجزای تشکیل‌دهنده‌ی سلول نظیر لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها آسیب وارد کرده و منجر به مرگ سلولی به صورت نکروز و آپوپتوز شوند. به دنبال پراکسیداسیون لیپیدی توسط رادیکال‌های آزاد در بافت، ترکیبات حد واسطی مانند مالون‌دی‌آلدئید (Malondialdehyde, MDA) در سلول ایجاد شده که مشخصه‌ی اصلی این فرآیند می‌باشد. به طور طبیعی در سلول‌ها آنزیم‌هایی مانند: سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase, SOD)، کاتالاز، گلوکوتاتیون پراکسیداز (Glutathione peroxidase, GPx) و گلوکوتاتیون ردوکتاز (Glutathione reductase, GR) وجود دارند که مسئول دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها می‌باشند [۱۳]. از آنجایی که مغز عضوی با میزان مصرف اکسیژن زیاد، ذخایر لیپیدی فراوان و نیز حاوی میزان زیادی اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد و از طرف دیگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن نیز کم است، بنابراین این استرس‌های اکسیداتیو می‌توانند منشأ بسیاری از آسیب‌های حاد هیستوپاتولوژیک در این عضو بسیار حساس باشند [۱۴].

در بسیاری از مطالعات حیوانی نشان داده شده است که استرس پره‌ناتال بر مغز زاده‌ها تأثیر زیادی می‌گذارد. از جمله نواحی از مغز که تحت تأثیر این استرس‌ها دچار تغییرات و ناهنجاری می‌شوند شامل: هیپوکمپ (کاهش تا ۳۰ درصد در حجم هیپوکمپ و اختلال در حافظه و یادگیری)، رابط قدامی (کاهش در میزان تراکم ماده‌ی سفید)، آمیگدال (کاهش حجم هسته‌های ناحیه‌ی آمیگدال و اختلال در حافظه و احساسات)، کورپوس کالوزوم (کاهش منطقه‌ی کورپوس کالوزوم مغز و ایجاد بیماری‌هایی از قبیل شیزوفرنی و اوتیسم)، قشر مغز (کاهش تعداد خارهای دندریتی در دندریت‌های نورون‌های هرمی قشر و اختلال در یادگیری زبان)، مخچه (کاهش نسبت

حیوانات در ارتباط می‌باشند. این ناهنجاری‌ها به صورت بیماری‌هایی در دوران کودکی و بزرگسالی مثل شیزوفرنی، اوتیسم، بیش‌فعالی، ناهنجاری‌های ساختاری و عمل‌کردی اندام‌های بدن و اختلال در یادگیری و حافظه بروز می‌کنند [۲]. از انواع استرس که در تجربیات آزمایش‌گاهی به کار می‌رود، می‌توان به استرس فیزیولوژیکی مانند سرما (هیپوترمی) و شنا در آب سرد، استرس سایکولوژیکی مانند محدودیت حرکتی و استرس سایکوفیزیولوژیکی چون شوک کف پا اشاره نمود [۳].

در شرایط استرسی دو سیستم در بدن فعال می‌شوند: یکی سیستم سمپاتو-آدرنو-مدولار است که به سرعت در هنگام استرس فعال شده و باعث افزایش کاتکول‌آمین‌ها (اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین) در خون می‌شود و دیگری محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) می‌باشد که باعث آزادسازی گلوکوکورتیکوئیدها (کورتیکوسترون در جوندگان و کورتیزول در انسان) از قشر آدرنال می‌گردد [۴]. کورتیکوستروئیدها به سبب داشتن ساختمان لیپوفیل به راحتی می‌توانند از سد خونی-مغزی عبور کرده و پس از ورود به بافت مغز به گیرنده‌های خود متصل شوند [۴-۶]. گلوکوکورتیکوئیدها دو نوع گیرنده به نام گیرنده‌های مینرالوکورتیکوئیدی (MR) و گلوکوکورتیکوئیدی (GR) دارند. گیرنده‌های MR، تمایل بالایی برای کورتیکوسترون و کورتیزول دارند و تعداد آن‌ها در مغز بیش‌تر است، در حالی که گیرنده‌های GR، تمایل کم‌تری به کورتیزول داشته و در تمام نواحی مغز پراکنده هستند [۷-۱۰].

تحت شرایط طبیعی، میزان دسترسی جنین به گلوکوکورتیکوئیدهای مادر به دلیل وجود آنزیمی به نام آنزیم مهارکننده‌ی گلوکوکورتیکوئید (۱۱-هیدروکسی استروئید دهیدروژناز، HSD-۱۱) کم است. مواجهه‌ی تکرارشونده با استرس پره‌ناتال منجر به کاهش فعالیت HSD-۱۱ و هم‌چنین تغییر در فنوتیپ جفت و بنابراین افزایش دسترسی جنین به کورتیکوسترون مادری می‌شود [۱۱، ۲]. ترشح بیش از حد گلوکوکورتیکوئیدها در خون توسط فعالیت محور HPA به

حیوانات مورد مطالعه. برای انجام این مطالعه، تعداد ۴۸ سر موش سفید بزرگ آزمایشگاهی ماده بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 200 گرم از کلونی حیوانات حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی تهران خریداری شد. موش‌ها به مدت دو هفته در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۵۵-۴۵ درصد، دمای 2 ± 24 درجه سانتی‌گراد و دسترسی کافی و آزاد به آب و غذا در حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی سمنان نگهداری شدند. تمام مراحل کار با حیوانات بر اساس دستورالعمل کمیته اخلاق و حمایت از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

نحوه‌ی آماده‌سازی و گروه‌بندی حیوانات. پس از سازگاری حیوانات با محیط، هر موش ماده به طور جداگانه در یک قفس همراه با یک موش نر به مدت یک شب قرار داده شد. صبح روز بعد با مشاهده‌ی پلاک واژینال و تهیه اسمیر از واژن جهت مشاهده‌ی اسپرم، روز صفر حاملگی مشخص و رت‌های نر از قفس خارج شدند. در روز دوازدهم بارداری، حیوانات باردار به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند (۸-۶ سر موش باردار در هر گروه). ۱- گروه بدون استرس و بدون تزریق، ۲- گروه بدون استرس همراه با تزریق حلال پروپولیس، ۳- گروه تحت استرس همراه با تزریق حلال پروپولیس، ۴- گروه تحت استرس که mg/kg ۵۰ عصاره پروپولیس دریافت کردند، ۵- گروه تحت استرس که mg/kg ۱۰۰ عصاره پروپولیس دریافت کردند، ۶- گروه تحت استرس که mg/kg ۲۰۰ عصاره پروپولیس دریافت کردند.

روش اعمال استرس پره‌ناتال. حیوانات در گروه‌های اول و دوم، هیچ‌گونه استرسی دریافت نکردند و آب و غذای کافی در اختیار داشتند. در گروه‌های سوم تا ششم، حیوانات باردار از روز ۱۲ تا ۲۰ بارداری، روزانه به مدت ۶ ساعت (از ساعت ۸ تا ۱۴) تحت استرس محدودیت حرکتی (در داخل مقیدکننده رت از جنس P.V.C با ابعاد $21 \times 6 \times 6$ و به شکل نیم استوانه‌ای قابل تنظیم) قرار گرفتند [۲۴].

سلول‌های دانه‌دار به سلول‌های پورکنز و ایجاد بیماری‌هایی مثل بیش‌فعالی و اختلالات رفتاری) و هیپوتالاموس (تغییر در حجم هسته‌های هیپوتالاموس) و غیره می‌باشند [۱۶، ۱۵، ۱۱، ۲، ۱].

پروپولیس (بره موم) یک محصول طبیعی صمغی شکل از رزین‌های گیاهی است که از جوانه‌ها، برگ‌ها و دیگر بخش‌های گیاهانی مثل سپیدار، کاج، صنوبر و ... ترشح شده و توسط زنبور عسل جمع‌آوری می‌گردد، سپس زنبورها به آن موم و دیگر ترشحات خود را اضافه می‌کنند. مطالعات بسیاری فعالیت‌های بیولوژیکی و دارویی شامل اثرات ضد سرطانی، ضد التهابی، ضد باکتری، ضد توموری، ضد ویروسی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن را تأیید کرده‌اند که این ویژگی‌ها را به ترکیبات شیمیایی متنوع آن نسبت می‌دهند [۲۳-۱۷، ۱۲]. پروپولیسکی از قدرتمندترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و در بین محصولات زنبور عسل می‌باشد. این اثر عمدتاً به علت غلظت بالای فلاونوئیدها و فنولیک‌ها می‌باشد که مهم‌ترین ترکیبات فعال دارویی در پروپولیس هستند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده‌ی عصاره‌ی پروپولیس در واحدهای ORAC (ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن) ۴ برابر بیش‌تر از ویتامین E می‌باشد [۱۹].

همان‌طور که گفته شد بسیاری از ناهنجاری‌های دوره‌ی پس از تولد و بزرگ‌سالی ناشی از استرس‌های مختلفی است که در دوران جنینی روی داده است. بنابراین یافتن داروهایی که بتوانند اثرات مخرب این استرس‌های مزمن را بر بافت‌های بدن به‌ویژه مغز مهار نمایند، اهمیت فوق‌العاده زیادی دارند. با توجه به نقش بسیار گسترده بخش‌های مختلف مغز در کنترل اعمال حیاتی بدن و همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی پروپولیس، هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثرات حفاظتی عصاره‌ی هیدروالکلی پروپولیس ایرانی بر تغییرات شاخص‌های استرس اکسیداتیو ناشی از استرس محدودیت حرکتی پره‌ناتال در مغز جنین موش‌های صحرایی می‌باشد.

برش‌های ۵ میکرونی از آن‌ها تهیه و با روش هماتوکسیلین-اؤزین رنگ‌آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری مطالعه شدند.

روش ایمنواسی برای سنجش کورتیکوسترون:

برای تعیین میزان کورتیکوسترون سرم خون از روش ایمنواسی استفاده شد. به این ترتیب که نمونه خون تهیه شده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. سپس سرم جدا و تا زمان اندازه‌گیری کورتیکوسترون در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جهت سنجش سطح کورتیکوسترون خون از کیت رادیوایمنواسی (Corticosterone, ELISA, DRG, Marburg, Germany) استفاده گردید [۲۶].

روش سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتیو و

آنتی‌اکسیدان. اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

۱/۵ میلی‌لیتر اسیدفسفوریک ۱ درصد + ۰/۵ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک (TBA) ۰/۶ درصد + ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه را مخلوط کرده در بن‌ماری جوش به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شد. بعد از سرد کردن، ۴ میلی‌لیتر بوتانول اضافه شده و تکان داده شد و با دور ۳۰۰۰ به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ گردید و محلول روپی آن جدا و مورد استفاده قرار گرفت. جذب نوری محلول (OD) در طول موج ۵۳۵ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید [۲۷].

اندازه‌گیری (FRAP (Ferric reducing ability of plasma)

مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP با ۵۰ میکرولیتر نمونه مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و جذب نوری (OD) در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شد [۲۹، ۲۸].

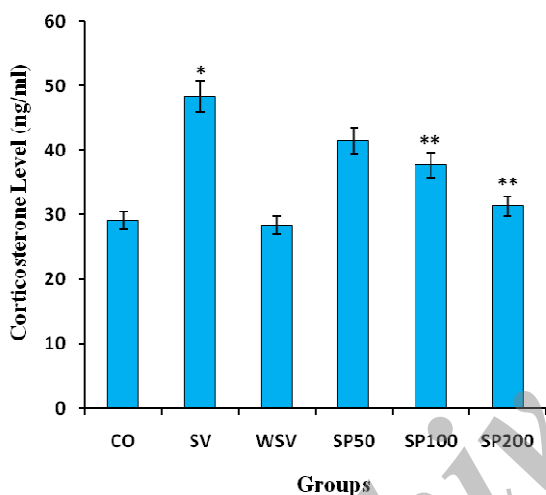
اندازه‌گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

نقش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) تسریع تبدیل رادیکال سوپراکسید تولید شده در طی فرآیندهای اکسیداتیو به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی می‌باشد. در این روش اندازه‌گیری از گزانتین (Xanthine) و گزانتین اکسیداز (Xanthine Oxidase) برای تولید رادیکال‌های سوپراکسید

نحوه‌ی آماده‌سازی و تزریق عصاره‌ی پروپولیس. پروپولیس مورد استفاده در این تحقیق از کندوهای زنبور عسل واقع در نواحی شمالی استان سمنان جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها در اسرع وقت به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده پزشکی منتقل و تا زمان عصاره‌گیری در داخل یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. عصاره‌ی آبی-الکلی پروپولیس هر هفته به صورت تازه تهیه گردید. به این ترتیب که ابتدا قطعات بزرگ بره موم به قطعات ریز خرد شده سپس مقدار ۲۵ گرم از آن در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد در یک ظرف دربسته و در دمای ۴۲°C به مدت ۴۸ ساعت روی دستگاه شیکر قرار گرفت. سپس محلول حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱، در دمای اتاق فیلتر گردید. عصاره‌ی آماده شده برای تهیه پودر خالص آن در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت قرار داده شد. سپس پودر خالص به دست آمده جهت تهیه دوزهای مختلف مورد استفاده در این مطالعه با الکل ۱۰ درصد رقیق گردید و تا زمان استفاده در ظرف شیشه‌ای تیره‌رنگ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در گروه‌های تجربی چهارم، پنجم و ششم به صورت روزانه و به مدت ۹ روز (از روز ۱۲ تا ۲۰ حاملگی) حدود نیم ساعت قبل از اعمال استرس عصاره پروپولیس با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق شد [۲۵].

نحوه‌ی تهیه نمونه خون و بافت مغز. در آخرین روز بارداری (روز ۲۱) مادران باردار با تزریق داخل صفاقی کتامین/زایلازین بی‌هوش شده و یک میلی‌لیتر خون از قلب حیوان جهت سنجش میزان کورتیکوسترون گرفته شد، سپس جنین‌ها از رحم مادر خارج شدند. پس از کشتن جنین‌ها، مغز آن‌ها خارج و توزین شد. نیمی از مغزها جهت بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدان، بلافاصله در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد فریز گردید. نیمی دیگر جهت بررسی‌های بافت‌شناسی در فرمالین نمکی ۱۰ درصد ثابت شدند و پس از انجام مراحل آماده‌سازی بافت و قالب‌گیری،

کنترل تقریباً پریکاریون تمام نوروها وضعیت طبیعی داشته و تغییرات دژنراتیو قابل مشاهده نمی‌باشد (شکل ۲، A)، در گروه استرس تعداد زیادی از پریکاریون نوروها به صورت مترکم و تیره بوده که نشان‌دهنده تغییرات دژنراتیو و احتمالاً فرآیند آپوپتوز در آنها است به همین دلیل جمعیت نوروهایی با پریکاریون سالم کاهش نشان می‌دهد (شکل ۲، B). در گروه‌های استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس با دوز ۲۰۰ و ۱۰۰ mg/kg تغییرات تخریبی ناشی از استرس به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافته و اکثریت پریکاریون‌ها در حالت طبیعی قابل مشاهده می‌باشند (شکل ۲، C, D).



شکل ۱. اثر عصاره پروپولیس بر سطح سرمی کورتیکوسترون حیوانات باردار تحت استرس مزمن پره ناتال. گروه کنترل (CO)، گروه استرس حلال خالی (SV)، گروه بدون استرس حلال خالی (WSV)، گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس 50 mg/kg (SP50)، گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس 100 mg/kg (SP100) و گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس 200 mg/kg (SP200). داده‌ها به صورت Mean \pm SEM ارائه شده است. *: اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.001$ بین گروه استرس با گروه نرمال، **: اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.01$ بین گروه‌های پروپولیس ۱۰۰ و ۲۰۰ با گروه استرس، (n=8)

ارزیابی میزان شاخص استرس اکسیداتیو MDA

(مالون‌دی‌آلدئید) در بافت مغز جنین. میزان شاخص استرس اکسیداتیو MDA در بافت مغز جنین‌های ۲۱ روزه گروه تحت استرس پره‌ناتال (۰/۵۹ \pm ۰/۰۵) نسبت به گروه کنترل (۰/۴۲ \pm ۰/۰۰۶) افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.001$). درمان جنین‌های تحت استرس مزمن محدودیت حرکتی با عصاره پروپولیس (دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰

استفاده شده است، سپس این رادیکال‌های سوپراکسید با 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (INT) تشکیل رنگ قرمز فورمازان واکنش می‌دهد. یک واحد SOD باعث مهار ۵۰ درصد سرعت واکنش INT تحت شرایط اندازه‌گیری می‌شود [۲۹، ۲۸].

اندازه‌گیری فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز (GPx)

اکسیداسیون گلوکوتایون توسط Cumene hydroperoxide کاتالیز می‌گردد. در حضور گلوکوتایون ردوکتاز و NADPH، بلافاصله گلوکوتایون اکسیده به گلوکوتایون احیاء تبدیل شده و هم‌زمان NADPH به NADP اکسید می‌شود. کاهش جذب نور در ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و عدد آن در فاکتور قید شده در کیت ضرب گردید و میزان فعالیت بر حسب Unit به دست آمد [۲۹، ۲۸].

محاسبات آماری. در این تحقیق تمامی داده‌ها به صورت mean \pm SEM ارائه شده‌اند. داده‌های حاصل در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تکمیلی Tukey توسط نرم‌افزار SPSS، Version 20، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

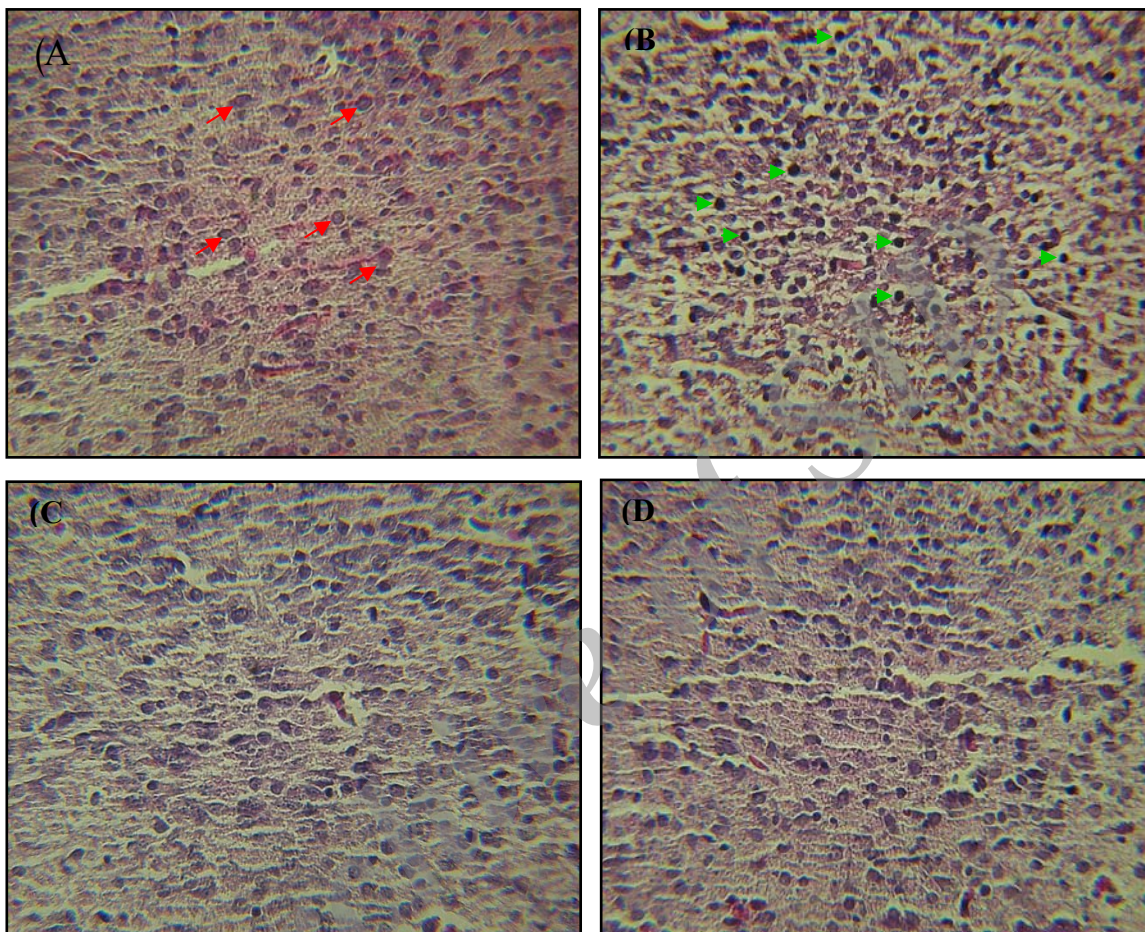
نتایج

ارزیابی سطح کورتیکوسترون خون. میانگین سطح کورتیکوسترون در خون حیوانات باردار که تحت استرس محدودیت حرکتی بودند (۴۸/۴۶ \pm ۴۴/۴) نسبت به گروه کنترل (۲۹/۰۹ \pm ۲/۷۷) افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.001$). عصاره هیدروآلکلی پروپولیس ایرانی باعث کاهش در سطح کورتیکوسترون خون گردید و این کاهش فقط در گروه پروپولیس با دوز ۲۰۰ mg/kg (۳۱/۳۶ \pm ۴/۰۵)، معنی‌دار بود ($P < 0.01$) (شکل ۱).

یافته‌های بافت‌شناسی. شکل ۲ نمای میکروسکوپ نوری بافت مغز را در بخش میانی ساقه مغز نشان می‌دهد. در گروه

گروه‌های پروپولیس ۱۰۰ و ۲۰۰ ($P < 0/01$) از لحاظ آماری معنی‌دار بود. لذا به نظر می‌رسد که اثر عصاره پروپولیس ایرانی بر کاهش سطح MDA بافت مغز به صورت وابسته به دوز می‌باشد (شکل ۳).

میلی‌گرم بر کیلوگرم) باعث کاهش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدئید بافت مغز (به ترتیب، $0/53 \pm 0/006$ ، $0/51 \pm 0/007$ و $0/47 \pm 0/006$) گردید ($P < 0/01$) (شکل ۳). از طرفی اختلاف سطح MDA بافت مغز بین گروه‌های پروپولیس ۵۰ و ۲۰۰ ($P < 0/01$) و همچنین بین

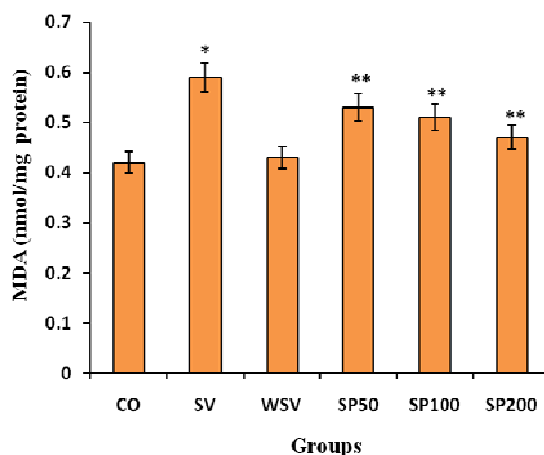


شکل ۲. تصاویر میکروسکوپ نوری از بخش میانی ناحیه ساقه مغز جنین‌های ۲۱ روزه تحت استرس مزمن پره ناتال. A گروه کنترل (CO)، B گروه استرس+ حلال خالی (SV)، C گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس 100 mg/kg (SP100)، D گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس 200 (SP200) mg/kg (→) نشان‌دهنده پریکاریون نورونهای سالم، (▶) نشان‌دهنده پریکاریون نورونهای در حال تخریب و فرآیند آپوپتوز، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، بزرگنمایی ۴۰×

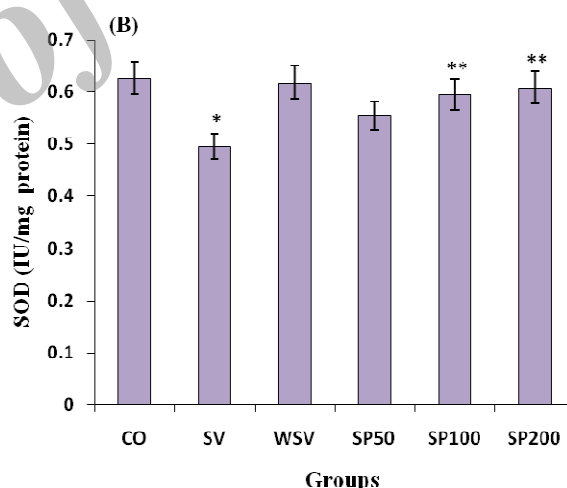
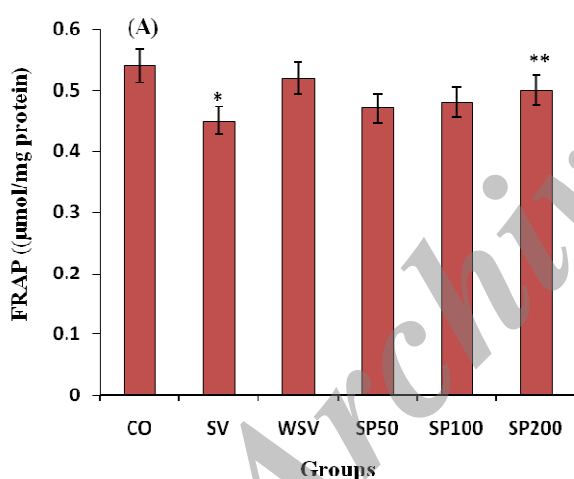
ترتیب، $0/54 \pm 0/009$ ، $0/627 \pm 0/008$ ، $0/16 \pm 0/005$) کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/01$) (شکل ۴، A, B, C). درمان موش‌های باردار تحت استرس مزمن با عصاره پروپولیس ایرانی باعث افزایش شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی بافت مغز در جنین‌های ۲۱ روزه گردید.

ارزیابی میزان شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت مغز جنین. میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی کل بافت (FRAP)، سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و سطح آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) در بافت مغز جنین‌های ۲۱ روزه گروه تحت استرس مزمن (به ترتیب، $0/44 \pm 0/006$ ، $495/0 \pm 0/006$ ، $0/109 \pm 0/007$) نسبت به گروه کنترل بدون استرس (به

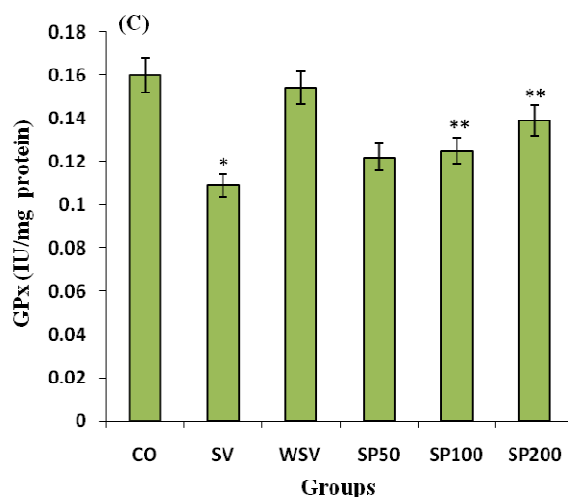
این افزایش در مورد SOD و GPx با دوزهای mg/kg ۱۰۰ (به ترتیب ۰/۵۹۵±۰/۰۰۵ و ۰/۱۲۵±۰/۰۰۵) و ۲۰۰ mg/kg (به ترتیب ۰/۶۰۸±۰/۰۰۶ و ۰/۱۳۹±۰/۰۰۴) از لحاظ آماری معنی دار بود ولی در مورد FRAP فقط با دوز ۲۰۰ mg/kg (۰/۵۱±۰/۰۰۷) معنی دار نشان داد ($P < 0/001$) (شکل ۴، A, B, C).



شکل ۳. اثر عصاره پروپولیس بر میزان مالون دی آلدئید (MDA) بافت مغز جنین‌های ۲۱ روزه تحت استرس مزمن پره ناتال. گروه کنترل (CO)، گروه استرس حلال خالی (SV)، گروه بدون استرس حلال خالی (WSV)، گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس 50 mg/kg (SP50)، گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس 100 mg/kg (SP100) و گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس 200 mg/kg (SP200). داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ ارائه شده است. *: اختلاف معنی دار در سطح $P < 0/001$ بین گروه استرس با گروه نرمال، **: اختلاف معنی دار در سطح $P < 0/01$ بین گروه‌های پروپولیس ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ با گروه استرس، (n=۸).



شکل ۴. اثر عصاره پروپولیس بر میزان شاخص آنتی اکسیدانی تام بافت (A, FRAP)، میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (B, SOD) و میزان آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز (C, GPx) بافت مغز جنین‌های ۲۱ روزه تحت استرس مزمن پره ناتال. گروه کنترل (CO)، گروه استرس حلال خالی (SV)، گروه بدون استرس حلال خالی (WSV)، گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس 50 mg/kg (SP50)، گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس 100 mg/kg (SP100) و گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس 200 mg/kg (SP200). داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ ارائه شده است. *: اختلاف معنی دار در سطح $P < 0/001$ بین گروه استرس با گروه کنترل، **: اختلاف معنی دار در سطح $P < 0/01$ بین گروه‌های پروپولیس ۱۰۰ و ۲۰۰ با گروه استرس، (n=۸).



بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استرس محدودیت حرکتی پره‌ناتال باعث افزایش معنی‌دار سطح کورتیکوسترون خون و میزان شاخص استرس اکسیداتیو MDA و کاهش معنی‌دار میزان FRAP، SOD و GPx در بافت مغز جنین‌های ۲۱ روزه نسبت به گروه کنترل می‌شود. درمان موش‌های باردار تحت استرس مزمن با عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی، به‌طور معنی‌داری سطح کورتیکوسترون خون را کاهش و میزان MDA را در مغز جنین‌ها کاهش و هم‌چنین میزان FRAP، SOD و GPx را افزایش داد.

در بسیاری از مطالعات حیوانی نشان داده شده است که استرس پره‌ناتال ناهنجاری‌هایی در مغز زاده‌ها شامل؛ کاهش حجم هیپوکمپ، کاهش تراکم ماده‌ی سفیدرابط قدامی، کاهش حجم هسته‌های ناحیه‌ی آمیگدال و اختلال در حافظه، یادگیری و احساسات، کاهش حجم کورپوس کالوزوم مغز، کاهش خارهای دندریتی نورون‌های هرمی قشر مغز، کاهش نسبت سلول‌های دانه‌دار به سلول‌های پورکنز مخچه، کاهش حجم هسته‌های هیپوتالاموس و بیماری‌هایی از قبیل شی‌زوفرنی، اوتیسم، بیش‌فعالی و اختلالات رفتاری ایجاد می‌کند [۱۶، ۱۵، ۱۱، ۲، ۱].

در مطالعه حاضر، سطح کورتیکوسترون در خون حیوانات باردار افزایش یافت. یافته‌های قبلی نشان داده‌اند که مکانیسم اصلی اثر استرس پره‌ناتال بر جنین از طریق مسیر HPA (Hypothalamic-Pituitary-Adrenal pathway) اتفاق می‌افتد و نتیجه‌ی آن افزایش کورتیزول (کورتیکوسترون در جوندگان) در خون مادر است [۱۶، ۱۵، ۲، ۱]. گزارش شده است سطح بالای کورتیزول که از طریق جفت به جنین انتقال می‌یابد تکامل نواحی فوق در مغز جنین را تحت تأثیر قرار می‌دهد. هم‌چنین افزایش کورتیزول باعث مهار یا کاهش بیان آنزیم مهارکننده‌ی گلوکوکورتیکوئید (HSD-۱۱) در جفت می‌شود که نتیجه‌ی آن قرار گرفتن بیش‌تر جفت و جنین در معرض گلوکوکورتیکوئیدها می‌باشد [۲]. مواجهه‌ی گسترده با گلوکوکورتیکوئیدها در اثر استرس پره‌ناتال، حساسیت

فیدبک‌مغزی HPA را به وسیله‌ی کاهش تراکم گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی (GR) و مینرالوکورتیکوئیدی (MR) در هیپوکمپ و هیپوتالاموس تضعیف می‌کند، بنابراین سطح گلوکوکورتیکوئیدها به مدت طولانی در پلاسما بالا باقی می‌ماند [۳۰، ۱۲، ۱۱]. از طرف دیگر افزایش شدید گلوکوکورتیکوئیدها در خون به دنبال استرس، باعث ایجاد استرس اکسیداتیو سلولی می‌شود [۱۲]. ROS تولید شده در استرس اکسیداتیو در ساختار و عمل‌کرد مولکول‌هایی حیاتی از قبیل لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها تغییر ایجاد کرده که منجر به آسیب و مرگ سلولی می‌شود به طوری که بر اساس یافته‌های امروزی استرس اکسیداتیو در ایجاد بیش از صد بیماری نقش ایفا می‌کند [۳۱].

اکسیداسیون لیپیدهای غشاء از طریق افزایش خاصیت هیدروفیلی آن باعث تغییر در ساختار، نفوذپذیری و اتصال گیرنده‌ها و آنزیم‌ها به غشاء می‌شود. هم‌چنین رادیکال‌های آزاد باعث تولید آلدئیدهای گوناگون از جمله مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در غشاء می‌شوند [۱۴]. نتایج پژوهش حاضر نیز حاکی از افزایش تولید MDA در اثر استرس اکسیداتیو بوده که در راستای یافته‌های فوق می‌باشد.

سلول‌های بدن به‌طور طبیعی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد هستند. سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی شامل مسیرهای آنتی‌اکسیدانی آنزیماتیک مثل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPx) و کاتالاز و غیر آنزیماتیک مثل گلوکوتاتیون (GSH)، اسید آسکوربیک (ویتامین C)، توکوفرول (ویتامین E) کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها می‌باشد. جهت تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی تام (آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیماتیک)، میزان FRAP اندازه‌گیری می‌شود [۳۵-۳۲، ۱۳، ۱۲]. در مطالعات قبلی مشاهده شده است که پراکسیداسیون لیپیدی در طول دوران بارداری افزایش چشم‌گیری پیدا می‌کند. هم‌چنین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکوتاتیون پراکسیداز در اواخر حاملگی کم‌تر بوده و این کاهش تا پایان دوره‌ی شیردهی ادامه می‌یابد [۳۵].

ویتامین C در برابر اکسیدشدن دنیا تخریب در طی استرس اکسیداتیو می‌باشند [۱۹، ۱۲]. گزارش شده است که فعالیت آنزیمی و غیر آنزیمی آنتی‌اکسیدان‌ها به طور قابل توجهی توسط پروپولیس افزایش یافته و هم‌چنین پروپولیس افزایش معنی‌داری را در سطح ویتامین C پلاسما، کلیه، معده، روده‌ی کوچک و روده‌ی بزرگ القا می‌کند. ثابت شده است که پروپولیس از گردش خون جذب شده و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان آب‌دوست در جذب ویتامین C نقش ایفا می‌کند [۲۱]. گزارش شده است علاوه بر فلاونوئیدها، ترکیبی به نام استرنتیل کافئیک‌اسید (CAPE) نیز مسئول خواص آنتی‌اکسیدانی پروپولیس می‌باشد که این ترکیب از غشاء سلول در برابر پراکسیداسیون لیپیدها محافظت می‌کند. در مطالعات قبلی نشان داده شده است که CAPE به عنوان یک آنتی‌اکسیدان، سطح مالون‌دی‌آلدئید را به وسیله‌ی سرکوب تولید رادیکال آزاد اکسیژن کاهش می‌دهد [۴۰]. هم‌چنین مشاهده شده است که پروپولیس اثرات حفاظت نرونی سیستم عصبی مرکزی دارد و این اثرات تا حدی از طریق اثرات آنتی‌اکسیدانی آن میانجی‌گری می‌شود. برای مثال اخیراً مشاهده شده است پروپولیس با افزایش سطح ویتامین‌های E و C در مغز و بنابراین ارتقاء ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها و نوروهای مغزی، منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و اکسیداسیون پروتئین‌ها در مدل نورو توکسیسیته‌ی القا شده توسط سرب می‌شود [۲۱]. هم‌چنین گزارش شده است که CAPE و اجزاء قابل حل پروپولیس در آب در شرایط ایسکمی موقت، از آسیب نوروها جلوگیری می‌کنند و در برابر آسیب القا شده توسط استرس اکسیداتیو در شبکه‌ی نقش حفاظتی دارند. از طرف دیگر عصاره‌ی الکلی پروپولیس از بیان ژن و فعالیت آنزیمی iNOS نیز جلوگیری می‌کند [۴۱].

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پروپولیس ایرانی قادر است از استرس اکسیداتیو ناشی از استرس سایکولوژیک محدودیت حرکتی پره‌ناتال جلوگیری کرده و اثرات مخرب ناشی از آن را در بافت مغز کاهش دهد. در واقع پروپولیس (به‌ویژه دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰) به‌طور معنی‌داری سطح

افزایش گلوکوکورتیکوئیدها به دنبال استرس، دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن را مختل نموده و تعادل بین فاکتورهای اکسیدان و آنتی‌اکسیدان بدن را تغییر می‌دهد. در کشت‌های سلولی نیز مشاهده شده است که گلوکوکورتیکوئیدها تولید ROS را افزایش می‌دهند [۳۶، ۱۲]. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تزریق کورتیکوسترون، آنزیم لیپید هیدروکسی پراکسیداز را در هیپوکمپ افزایش و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مثل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز را کاهش می‌دهد و به این طریق منجر به نقص عمل‌کرد فعالیت‌های شناختی در رت می‌شود [۱۲].

در بین اندام‌های بدن، بافت مغز به دلیل مصرف اکسیژن بالا (۲۰ درصد اکسیژن مصرفی کل بدن)، غنی بودن از سوبستراهای قابل اکسید (غنی بودن غشاء نوروها از اسیدهای چرب غیر اشباع) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پایین، به آسیب پراکسیداتیو حساسیت بیش‌تری دارد که می‌تواند منجر به بیماری‌هایی از قبیل آلزایمر، پارکینسون و ... گردد. هم‌چنین در بافت مغز به میزان زیادی کاتالیزورهای فلزی مانند آهن یافت می‌شود که نقش مهمی در ایجاد ROS دارند [۳۶-۳۲]. نشان داده شده است که به دنبال استرس مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به خصوص سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز در نوروها کاهش می‌یابد که می‌تواند توانایی نوروها را در مقابله با استرس‌های اکسیداتیو کاهش داده و در نهایت منجر به آسیب نرونی شود [۳۷]. همان‌طور که در نتایج ما مشاهده شد احتمالاً استرس اکسیداتیو ناشی از استرس محدودیت حرکتی پره‌ناتال، باعث کاهش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز در بافت مغز جنین‌های ۲۱ روزه شده است که توسط یافته‌های فوق تایید می‌شود.

پروپولیس یکی از غنی‌ترین منابع فنولیک‌های گیاهی (فلاونوئیدها و فنولیک‌اسیدها) است که به‌طور گسترده به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی تشخیص داده شده‌اند [۳۹، ۳۸، ۲۳، ۲۲، ۱۹، ۱۸]. این ترکیبات قادر به برداشت رادیکال‌های آزاد، حفاظت لیپیدها و دیگر ترکیبات مثل

[12] Sato H, Takeyuki T, Sumitani K, Tkastu H, Urano S. Glucocorticoid generates ROS to induce oxidative injury in the hippocampus, leading to impairment of cognitive function of rats. *J Clin Biochem Nutr* 2010; 47: 224-232.

[13] Lushchak V. Oxidative stress–environmental induction and dietary antioxidants, the effects of propolis in animals exposed oxidative stress. In *Tech* 2012; 267-288.

[14] Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR. Safranal, a constituent of *Crocus sativus* (saffron), attenuated cerebral ischemia induced oxidative damage in rat hippocampus. *J Pharm Pharm Sci* 2005; 8: 394-399.

[15] Wu J, Song TB, Li YJ, He KS, Ge L, Wang LR. Prenatal restraint stress impairs learning and memory and hippocampal PKC β 1 expression and translocation in offspring rats. *Brain Res* 2007; 1141: 205-213.

[16] Lemaire V, Koehl M, Le Moal M, Abrous DN. Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 11032-11037.

[17] Lotfy ML. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Prev* 2006; 7: 22-31.

[18] Jasprica I, Bojic M, Mornar A, Besic E, Bucan K, Medic-Saric M. Evaluation of antioxidant activity of croatian propolis samples using DPPH \cdot and ABTS \cdot stable free radical assays. *Molecules* 2007; 12: 1006-1021.

[19] Bogdanov S. Functional and biological properties of the bee products. *Bee Pro Sci* 2011; 1-12.

[20] Gulcin I, Bursal E, Sehitoglu MH, Bilsel M, Goren AC. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, turkey. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 2227-2238.

[21] El-Masry TA, Emara AM, El-Shitany NA. Possible protective effect of propolis against lead-induced neurotoxicity in animal model. *J Evolut Biol Res* 2011; 3: 4-11.

[22] Mohammadzadeh S, Shariatpanahi M, Hamed M, Amanzadeh Y, Sadat Ebrahimi S, Ostad S. Antioxidant power of Iranian propolis extract. *Food Chem* 2007; 103: 729-733.

[23] Arul Selvan K, Prabhu T. Extraction of propolis from beehives and characterization of its constituents and medicinal properties. *Inter J Adv Engin Technol* 2010; 11: 50-53.

[24] Miyagawa K, Tsuji M, Fujimori K, Saito Y, Takeda H. Prenatal stress induces anxiety-like behavior together with the disruption of central serotonin neurons in mice. *Neurosci Res* 2011; 70: 111-117.

[25] Ghassemi L, Zabihi E, Mahdavi R, Seyedmajidi M, Akram S, Motalebnejad M. The effect of ethanolic extract of propolis on radiation-induced mucositis in rats. *Saudi Med J* 2010; 31: 622-626.

[26] Rashidy-Pour A, Taherian A, Vafaei A, Miladi-Gorji H, Sadeghi H, Fathollahi Y, et al. Verapamil enhances the impairing effects of stress on retrieval of long-term memory in rats. *Koomeh* 2006; 8: 85-90. (Persian).

[27] Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978; 86: 271-278.

[28] Benzie IF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol* 1999; 299: 15-27.

[29] Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; 239: 70-76.

[30] Gulino A, De Smaele E, Ferretti E. Glucocorticoids and neonatal brain injury: the hedgehog connection. *J Clin Invest* 2009; 119: 243-246.

[31] Popovic M, Janicijevic-Hudomal S, Kaurinovic B, Rasic J, Trivic S, Vojnovic M. Antioxidant effects of some drugs on immobilization stress combined with cold restraint stress. *Molecules* 2009; 14: 4505-4516.

[32] Thompson LP, Al-Hasan Y. Impact of oxidative stress in fetal programming. *J Pregnancy* 2012; 2012: 1-8.

پلاسمایی کورتیکوسترون خون مادر و مالون‌دی‌آلدئید بافت مغز جنین‌ها را کاهش و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و میزان آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز را در بافت مغز افزایش داد. در نتیجه این اثرات مفید می‌توانند پروپولیس را به‌عنوان یک ترکیب با پتانسیل‌حفاظتی قوی در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو مطرح نمایند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم پزشکی سمنان که با تأمین اعتبار لازم، امکان انجام این تحقیق را فراهم نمودند و هم‌چنین از سرکار خانم کوهساریان کارشناس محترم گروه بیوشیمی، سرکار خانم بهلوان و سرکار خانم مجیدی کارشناسان محترم بخش گروه علوم تشریح به خاطر همکاری خالصانه، تشکر و قدردانی می‌شود. این مقاله از پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریح استخراج شده است.

منابع

- [1] Relier JP. Influence of maternal stress on fetal behavior and brain development. *Biol Neonate* 2001; 79: 168-171.
- [2] Charil A, Laplante DP, Vaillancourt C, King S. Prenatal stress and brain development. *Brain Res Rev* 2010; 65: 56-79.
- [3] Ahmadi H, Rostami P. The effect of prenatal restraint stress on the immunofunction of 60 days male rats. *J Isfahan Med Sch* 2008; 26: 286-293. (Persian).
- [4] Ochiai T, Ohno S, Soeda S, Tanaka H, Shoyama Y, Shimeno H. Crocine prevent the death of rat pheochromocytoma (pc12) cells by its antioxidant effects stronger than those of alphatocopherol. *Neurosci Lett* 2004; 362: 61-64.
- [5] Wolf OT. HPA axis and memory. *Best Pract Clin Endocrinol Metab* 2003; 17: 287-299.
- [6] McGaugh JL, Roozendaal B. Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. *Curr Opin Neurobiol* 2002; 12: 205-210.
- [7] Wolf OT. Stress, memory and aging: relevance for the peri- and post-menopausal woman. *Menopausal Management* 2007; 22-30.
- [8] De Kloet ER. Hormones and the stressed brain. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1018: 1-15.
- [9] de Kloet ER, Oitzl MS, Joëls M. Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? *Trends Neurosci* 1999; 22: 422-426.
- [10] Conrad CD. The relationship between acute glucocorticoid levels and hippocampal function depends upon task aversiveness and memory processing stage. *Nonlinearity Biol Toxicol Med* 2005; 3: 57-78.
- [11] Ulupnar E. Effects of prenatal stress on developmental anatomy of the brain and adult behavioural pathology. *Anatomy* 2009; 3: 3-13.

[38] Fonseca YM, Marquele-Oliveira F, Vicentini FT, Furtado NA, Sousa JP, Lucisano-Valim YM, Fonseca MJ. Evaluation of the potential of Brazilian propolis against UV-induced oxidative stress. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011; 2011: 1-8.

[39] Miguel MG, Nunes S, Dandlen SA, Cavaco AM, Antunes MD. Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, south of Portugal. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 3418-3423.

[40] Seven I, Aksu T, Seven PT. The effects of propolis on biochemical parameters and activity of antioxidant enzymes in broilers exposed to lead-induced oxidative stress. *Asian Aust J Anim Sci* 2010; 23: 1482-1489.

[41] Kasai M, Fukumitsu H, Soumiya H, Furukawa S. Ethanol extract of Chinese propolis facilitates functional recovery of locomotor activity after spinal cord injury. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011; 2011: 1-9.

[33] Melo A, Monteiro L, Lima RM, Oliveira DM, Cerqueira MD, El-Bachá RS. Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. *Oxid Med Cell Longev* 2011; 2011: 1-11.

[34] Ikonomidou C, Kaindl AM. Neuronal death and oxidative stress in the developing brain. *Antioxid Redox Signal* 2011; 14: 1535-1550.

[35] Upreti K, Misro MM. Evaluation of oxidative stress and enzymatic antioxidant activity in brain during pregnancy and lactation in rats. *Health Popul* 2002; 25: 105-112.

[36] Fontella FU, Siqueira IR, Vasconcelos AP, Tabajara AS, Netto CA, Dalmaz C. Repeated restraint stress induces oxidative damage in rat hippocampus. *Neurochem Res* 2005; 30: 105-111.

[37] Higgins GC, Beart PM, Shin YS, Chen MJ, Cheung NS, Nagley P. Oxidative stress: emerging mitochondrial and cellular themes and variations in neuronal injury. *J Alzheimers Dis* 2010; 20:S453-473.

Archive of SID

Effects of hydroalcoholic extract of Propolis on oxidative stress indices of rat fetal brain induced by chronic prenatal stress

Hamid Reza Sameni (Ph.D)¹, Fatemeh Kavakebian (M.Sc)^{*1}, Mohammad Hassan Amjad (M.Sc)¹, Ahmad Reza Bandegi (Ph.D)², Behpoor Yousefi (Ph.D)¹, Abbas Ali Taherian (M.D)³

1 - Research Center of Nervous System Stem Cells, Dept. of Anatomical Sciences, School of Medicine, Semnan University of Medical sciences, Semnan, Iran

2 - Research Center of Nervous System Stem Cells, Dept. of Biochemistry, School of Medicine, Semnan University of Medical sciences, Semnan, Iran

3 - Research Center of Physiology, Dept. of Anatomical Sciences, School of Medicine, Semnan University of Medical sciences, Semnan, Iran

(Received: 25 Sep 2013; Accepted: 20 Jan 2014)

Introduction: Prenatal stresses have different effects on structural features and antioxidant system in the fetus and build up disturbances in the hypothalamus-pituitary-adrenalaxis. Propolis is known as one of the strongest natural antioxidants. The purpose of this study was to investigate the effects of hydroalcoholic extract of Propolis on indices of oxidative stress induced by prenatal stress in the rat fetal brain.

Materials and Methods: Pregnant female Wistar rats were divided into 6 groups: Control, stress+Propolis solvent, non-stress +Propolis solvent, stress +Propolis 50 mg/kg, stress + Propolis 100 mg/kg and stress + Propolis 200 mg/kg. In the third to sixth groups, stress was created by restrainer for 6 hours per day from day 12 to day 20 of gestation in the rats. Then, the blood corticosterone and malondialdehyde (MDA), ferric ion reducing antioxidant power (FRAP), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) levels in brain were measured on day 21 of pregnancy.

Results: Chronic prenatal stress significantly increased blood corticosterone levels and MDA, whileas, reduced the levels of FRAP, SOD and GPx in the brain tissue of 21 days old embryos. Treatment of pregnant rats under chronic stress with extract of Iranian Propolis significantly reduced corticosterone levels in blood and brain's MDA and also increased FRAP, SOD and GPx in the brain tissue from fetuses.

Conclusion: Our findings showed that Iranian Propolis prevents from increasing serum corticosterone and brain MDA levels and from decreasing FRAP, SOD and GPx levels in brain under prenatal stress.

Keywords: propolis, Prenatal stress, Oxidative stress, Fetal brain, Rats

*Corresponding author. Fax: +98 23 33354177 Tel: +98 23 33354218
hrsameni@gmail.com

How to cite this article:

Sameni H, Kavakebian F, Tabriziamjad M, Bandegi A, Yousefi B, Taherian A. Effects of hydroalcoholic extract of Propolis on oxidative stress indices of rat fetal brain induced by chronic prenatal stress. koomesh. 2014; 15 (4) 15 (4) :482-492

URL http://koomeshjournal.semums.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-23-4&slc_lang=fa&sid=1