Archive of SID

فیزیولوژی و فارماکولوژی
جلد ۵، شماره ۱، بهار و تابستان ۸۰

اثرات استرس بی‌حرکتی پیش از تولد به میزان اخذ غذا و آب و وزن بدن در موش‌های نر نژاد ویستار

پروین رستمی، ابراهیم خدایار

دانشگاه تربیت معلم، گروه زیست شناسی

چکیده

انسان‌ها و حیواناتی که در دوران جنینی مادر تحت استرس قرار گرفته است، اختلالاتی را در رفتار اجتماعی و تنظیم محور H.P.A نشان می‌دهند. در این مطالعه موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده باردار در یک گروه کنترل و دو گروه تجربی قرار داده شدند. گروه‌های تجربی I و II از روز ۱۴ تا ۲۱ بارداری هر روز صبح به ترتیب مدت ۲ و ۳ ساعت تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند. در زاده‌های کنترل و تجربی در سن دو ماهگی پارامترهای وزن بدن و میزان اخذ غذا و آب اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل حاکی از آن است که اختلاف وزن بدن و میزان اخذ غذا بین سه گروه دارای تفاوت معنی‌داری است ($P<0/001$). میزان مصرف آب در گروه تجربی I و کنترل مربوطه مشابه بوده ولی گروه تجربی II و کنترل اختلاف معنی‌دار نشان می‌دهد ($P<0/05$). مطالعه حاضر به وضوح نشان داد که میزان اخذ غذا و وزن در گروه‌های استرس دیده (Prenatal stress = PS) در مقایسه با گروه کنترل کمتر است و افزایش مدت زمان اعمال استرس باعث کاهش بیشتر اخذ غذا، آب و وزن بدن می‌شود.

این پژوهش نشان داد که در موش‌های PS کاهش میزان وزن بدن به مراتب از کاهش اخذ غذا و آب مصرف شده بیشتر است. به نظر می‌رسد بخشی از مکانیسم‌هایی که موجب کاهش وزن بدن می‌شود، جدا از کاهش اخذ غذا بوده و اختلالات ایجاد شده در مکانیسم وزن بدن بر عکس آنچه در موش‌های محروم از غذا مشاهده شده است، قابل برگشت نیست.

واژه‌های کلیدی : استرس پیش از تولد، میزان اخذ غذا و آب، وزن بدن، موش بزرگ آزمایشگاهی.

مقدمه

در موجودات زنده در شرایط طبیعی، وضعیت هومئوستازی برقرار است و استرس اغلب باعث اختلال در هومئوستازی می‌شود [۱۳]. در جمعیت‌های انسانی، فرزندانی که مادران آنها در دوره بارداری دچار استرس شده‌اند، در مقایسه با فرزندانی که در دوران جنینی استرس ندیده‌اند، در سن ۱۵ سالگی اختلالات روانی بیشتری از جمله اسکیزوفرنی، الکلسیم، رفتارهای غیر اجتماعی و جنائی نشان می‌دهند [۱۵]. در موش‌هایی

www.SID.ir

Archive of SID

که استرس پیش از تولد (Prenatal Stress) دیده‌اند، به علت کاهش رسپتورهای گلوکوکورتیکوئیدی و اوپیوئیدی، فیدبک مهاری هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین (CRH) تضعیف شده و سطح کورتیکوسترون پلاسمایی بالا می‌رود، از این رو در سازش با محیط جدید خود ضعف نشان می‌دهند [۱۲ و ۱٤]. تأثیر استرس بی‌حرکتی بر غذای مصرفی و وزن بدن موش بالغ مورد بررسی قرار گرفته است [۹]. با توجه به اثرات قابل توجه استرس پیش از تولد فرزندان در جوامع انسانی و حیوانی و نقش تغذیه در رشد و نمو اندام‌ها و نظر به اینکه تاکنون تحقیقی در مورد اثر استرس قبل از تولد بر میزان اخذ غذا و آب انجام نشده است، لذا در این پژوهش رفتارهای تغذیه‌ای و وزن بدن موش‌هایی که پیش از تولد تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفته بودند، مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

۱- حیوانات مورد آزمایش و نحوهٔ نگهداری آنها :

موش‌های سفید آزمایشگاهی نژاد ویستار با وزن حدود ۲۰۰ گرم و سن متوسط ۲/۵ ماه از انستیتو پاستور تهران تهیه گردید و پس از انتقال به اتاق ویژه حیوانات جهت سازگاری با محیط قبل از شروع آزمایشات دو هفته نگهداری شدند. دمای اتاق پرورش حیوانات ۲ ± ۲۲ °C و پریود نوری به صورت ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم شده بود (سیکل روشنائی از ساعت ۸ تا ۲۰ بود). غذای مصرفی موش‌ها ساخت شرکت خوراک دام پارس و آب مصرفی آنها از لوله‌کشی شهر تهران تأمین می‌شد. قفس‌های نگهداری حیوانات از جنس ورق سفید گالوانیزه به ابعاد ٤٥×۳۰ سانتیمتر و ارتفاع ۲۰ سانتیمتر با محیط و سقف مشبک بود.

۲- نحوهٔ آماده سازی و باردار کردن موش‌های ماده :

پس از سازگاری حیوانات با محیط، موش های ماده که رفتارهایی نظیر تکان دادن گوش‌ها و لوردوزیس نشان می‌دادند، در مرحله استروس و از نظر جنسی فعال فرض می‌شدند و جهت آمیزش با موش نر آماده می‌گردیدند. حدود ساعت ۱٦ در هر قفس یک موش نر و یک موش ماده که از نظر جنسی فعال بود، قرار داده می‌شد. صبح روز بعد پلاک واژینال هر یک از ماده‌ها بررسی می‌گردید و در آنهایی که پلاک واژینال مشاهده می شد جدا و بعد از توزین در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند. روزی که موش نر با موش ماده در یک قفس قرار داده شده بود، روز صفر و روز بعد که ماده از نر جدا می‌شد، روز اول بارداری محسوب می‌شد. در روز چهاردهم بارداری بررسی شکم موش‌ها و توزین مجدد آنها انجام می‌گرفت و وقتی از بارداری آنها اطمینان حاصل شد، به صورت تصادفی به سه گروه کنترل، تجربی I و تجربی II تقسیم می‌شدند.

۳- روش اعمال استرس قبل از تولد :

موش‌های گروه کنترل هیچگونه استرسی دریافت نکردند و آب و غذای کافی در اختیار آنها قرار گرفت. در گروه‌های تجربی I و II حیوانات از روز ۱٤ تا ۲۱ دورهٔ بارداری روزانه صبح به ترتیب ۲ و ۳ ساعت در رسترینرهای پلکسی گلاس قابل تنظیم با وزن و جثه حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند. علت بکارگیری این نوع استرس آنست که به عنوان مدل حیوانی مطلوب جهت ایجاد پریشانی و بی‌اشتهایی عصبی شناخته شده است [۱۰]. در هفته آخر بارداری بخش‌های مختلف مغز جنین سازمان‌دهی پیدا کرده و عملکرد سیستم H.P.A تکمیل می‌گردد [۲] و نیز مشخص شده است در مادران باردار که در معرض استرس قرار

www.SID.ir

Archive of SID

می‌گیرند، میزان پروتئین متصل به کورتیکوسترون (CBG) کاهش یافته و باعث افزایش فیدبک (CRH) می‌شود که نتیجه آن افزایش کورتیکوسترون آزاد است [۱۱]. به دلایل فوق این دوره از بارداری جهت اعمال استرس انتخاب گردید.

٤- نحوهٔ اجرای آزمایشات بر روی فرزندان نر بالغ گروه‌های کنترل و تجربی :

در گروه آزمایشی ۱۲ موش نر بالغ که به سن ٦۰ روزگی رسیده بودند، انتخاب و هر موش نر در یک قفس نگهداری شد و به مدت یک هفته تغییرات وزن بدن، میزان اخذ غذا و آب هر یک از آنها بررسی گردید. در ساعت ١٦ هر روز ابتدا هر یک از موش‌های نر با ترازوی مخصوص توزین موش‌ها با دقت یک دهم گرم توزین و یادداشت می‌شد. سپس جهت بررسی میزان اخذ غذا، ۱۰۰ گرم غذای آماده را با ترازوی الکترونی وزن کرده و در ظرف مخصوص غذا که در محل خاصی در قفس تعبیه شده بود، قرار می‌گرفت. برای سنجش میزان مصرف آب به وسیلهٔ ارلن مدرج ۲۰۰ میلی‌لیتر آب در شیشه‌های آبخوری مخصوص موش ها ریخته می‌شد. روز بعد در همان وقت پس از توزین حیوان غذای باقیمانده و نیز خرده‌های غذایی و پودر شده که به زیر کف پوش میله‌ای قفس ریخته شده بود، پس از جداکردن از فضله‌ها جمع‌آوری و به وسیلهٔ ترازوی الکترونیکی با دقت یک دهم گرم وزن می‌شد و از کل غذایی (۱۰۰ گرم که در اختیار هر حیوان قرار گرفته بود، کسر می‌گردید. مقدار باقیماندهٔ میزان اخذ غذای هر موش نر در طی ٢٤ ساعت محسوب می‌شد. به همین ترتیب مقدار آب باقیمانده در شیشه آبخوری را با ارلن مدرج و با دقت یک میلی‌لیتر سنجیده و از کل آبی که در روز قبل (۲۰۰ ml) در اختیار حیوان قرار گرفته بود، کسر و مقدار باقیمانده آب مصرفی موش نر در طی ٢٤ ساعت بود. این آزمایشات به همین ترتیب به مدت یک هفته ادامه یافت و نتایج به دست آمده با روش‌های آماری تجزیه و تحلیل گردید.

٥- روش‌های محاسبات آماری :

به علت اینکه عامل استرس روی تیمارهای سه گانه مورد بررسی قرار گرفته است، از روش آنالیز واریانس تک عاملی (ANOVA) برای تحلیل اطلاعات استفاده گردید و سپس آنالیزها به وسیله Newman-Keuls مورد بررسی قرار گرفت و با توجه به درجه آزادی مربوطه سطح معنی تفاوت‌ها بیان گردید.

نتایج

۱- اثراسترس پیش از تولد بر وزن بدن :

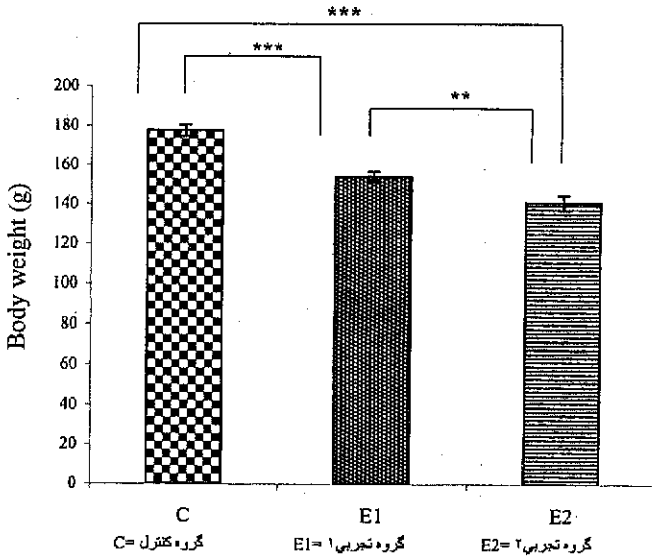
با توجه به (نمودار ۱) وزن بدن در بین سه گروه اختلاف معنی داری نشان می‌دهد ($P<۰/۰۰۱$). وزن بدن گروه‌های تجربی که استرس پیش از تولد دیده‌اند، نسبت به گروه کنترل کاهش نشان می‌دهد. (۱۷۷/۷٦ ± ۲/۹۵ g = گروه کنترل، ۱٥٤/۱۲ ± ۲/۸ g = گروه تجربی I، ۱٤۱/۳٦ ± ۳/۸٥g = گروه تجربی II). گروه‌های تجربی I و II دارای اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۰۱$) با گروه کنترل می‌باشند.

۲- بررسی مقادیر اخذ غذا در گروه‌های کنترل و تجربی :

میزان مصرف غذا در گروه‌های تجربی I و II نسبت به گروه کنترل دارای اختلاف معنی‌داری است ($P<۰/۰۰۱$). با توجه به (نمودار ۲)، گروه‌های تجربی که استرس پیش از تولد دیده‌اند، مقدار کمتری غذا نسبت به گروه کنترل مصرف می‌کنند (۱۷/٦٤ ±۰/٥۷ g = گروه کنترل، ۰/۲ g ± ۱٤/۸٤ = گروه تجربی I، ۰/۳٤ g ±

www.SID.ir

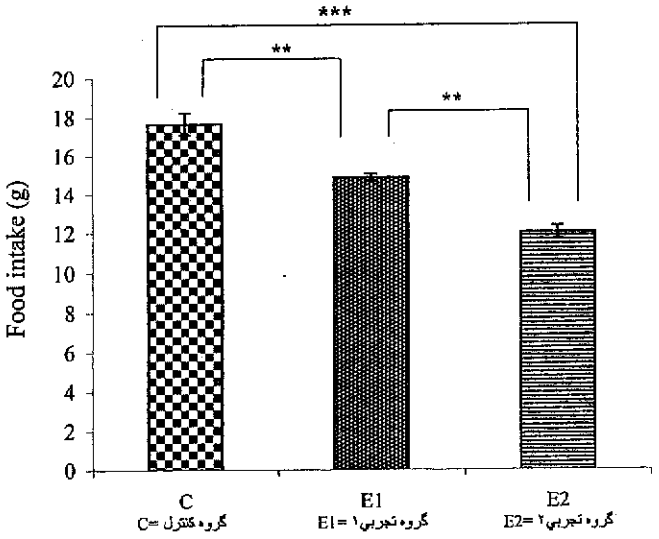
Archive of SID



نمودار ۱- مقایسه وزن بدن (g) در سه گروه آزمایشی (Mean ± S.E.M)، گروه‌های تجربی وزن بدن کمتری نسبت به گروه کنترل دارند و گروه تجربی II نیز وزن کمتری نسبت به گروه تجربی I دارد. گروه تجربی I با گروه کنترل در (P<۰/۰۰۱)، گروه تجربی II با گروه کنترل در (P<۰/۰۰۱) و با گروه تجربی I در P<۰/۰۱ معنی‌دار است.

E_1 = گروه تجربی I روزی ۲ ساعت استرس قبل از تولد (از روز ۱٤ تا روز ۲۱ جنین)

E_2 = گروه تجربی II روزی ۳ ساعت استرس قبل از تولد (از روز ۱٤ تا روز ۲۱ جنین)



نمودار ۲- مقایسه اخذ غذا در بین سه گروه آزمایشی (Mean ± S.E.M)، گروه‌های تجربی میزان اخذ غذای کمتری نسبت به گروه کنترل دارند و گروه تجربی II میزان اخذ غذای کمتری نسبت به گروه تجربی I دارد. گروه تجربی I با گروه کنترل در (P<۰/۰۱)، گروه تجربی II با گروه کنترل در (P<۰/۰۰۱) و به گروه تجربی I در (P<۰/۰۵) معنی دار است.

E_1 = گروه تجربی I روزی ۲ ساعت استرس قبل از تولد (از روز ۱٤ تا روز ۲۱ جنین)

E_2 = گروه تجربی II روزی ۳ ساعت استرس قبل از تولد (از روز ۱٤ تا روز ۲۱ جنین)

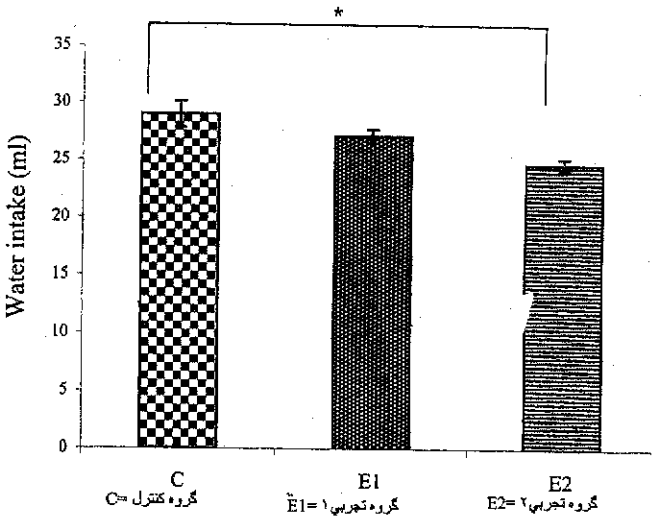
۱۲/۰۲ = گروه تجربی II). گروه تجربی I در مقایسه گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را در (P<۰/۰۱) نشان می‌دهد و گروه تجربی II در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را در (P<۰/۰۰۱) نشان می‌دهد. گروه تجربی II همچنین دارای اختلاف معنی‌داری در (P<۰/۰۵) با گروه تجربی I است.

۳- بررسی مقادیر اخذ آب در گروه‌های کنترل و تجربی :

با توجه به (نمودار ۳) میزان اخذ آب بین گروه تجربی I و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهد (۱/۱۵ ml ± ۲۹ = گروه کنترل، ۰/٦ ml ± ۲۷/۱٦ = گروه تجربی I) و گروه تجربی II نسبت به گروه کنترل میزان اخذ آب کمتری دارد (۰/۵ ml ± ۲٤/۷٦) که این اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۳- مقایسه اخذ آب در سه گروه آزمایشی (Mean ± S.E.M) گروه تجربی I و گروه کنترل اخذ میزان آب مشابهی داشتند ولی گروه تجربی II نسبت به گروه کنترل در میزان اخذ آب تفاوت معنی‌دار دارد ($P<0/05$).

E_1 = گروه تجربی I روزی ۲ ساعت استرس قبل از تولد (از روز ۱۴ تا روز ۲۱ جنین)

E_2 = گروه تجربی II روزی ۳ ساعت استرس قبل از تولد (از روز ۱۴ تا روز ۲۱ جنین)

بحث

نتایج پژوهش حاصل نشان می‌دهد که استرس پیش از تولد بر وزن بدن و رفتارهای تغذیه‌ای پایه، اثرات معنی‌داری دارد. موش‌هایی که قبل از تولد تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفته بودند، کمتر غذا مصرف می‌کردند و وزن بدن کمتری داشتند. تعدادی از محققین گزارش کرده‌اند، موش‌هایی که استرس پیش از تولد دیده‌اند وزن کمتری نسبت به موش‌هایی که استرس ندیده‌اند دارند [۱] و تعدادی از محققین اثری از PS بر کاهش وزن بدن مشاهده نکرده‌اند [۳ و ۵].

بالارفتن سطح کورتیکوسترون پلاسمایی مادر و جنین در اثر استرس بی‌حرکتی اعمال شده در دورهٔ بارداری باعث تأخیر در رشد و نمو هیپوکامپ و نواحی دیگر مغز می‌شود و رسپتورهای کورتیکوستروئید در آنها کاهش می‌یابد که نتیج آن بروز تغییرات رفتاری در موش‌های PS می شود [٤]. نتایج به دست آمده در این پژوهش نیز حاکی از تغییر معنی‌دار در رفتارهای تغذیه‌ای و وزن بدن بود و نتایج فوق را تأیید می‌کند.

تجویز کورتیکوسترون در موش‌ها موجب افزایش سطح لپتین، انسولین و mRNA مربوط به رسپتور نوع دوم هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین در هیپوتالاموس شکمی میانی می‌گردد [۷]. ورود لپتین به هیپوتالاموس بیان ژن CRH را افزایش می‌دهد. CRH به نوبه خود باعث کاهش آزادسازی NPY می‌شود که نتیجه آن کاهش اخذ غذا است [۱۳]. در این تحقیق نیز موش‌های گروه های تجربی کاهش معنی‌داری در اخذ غذا نسبت به گروه کنترل داشتند و مشخص شد افزایش مدت زمان اعمال استرس در گروه تجربی II موجب کاهش بیشتر در مقدار غذای مصرف شده می‌شود. پس احتمالاً در موش‌های PS به علت بالا بودن سطح کورتیکوسترون، لپتین پلاسمایی نیز بالا رفته و منجر به افزایش CRH می‌شود که نتیجه آن کاهش آزادسازی NPY و تمایل به اخذ غذا است.

نتایج این پژوهش نشان داد که کاهش وزن بدن در موش‌های PS به مراتب بیشتر از کاهش اخذ غذا و آب در آنها می‌باشد. یعنی بخشی از مکانیسم‌هایی که موجب کاهش وزن بدن می‌شوند از مکانیسم‌های اخذ غذا مجزا می‌باشد و به عبارت دیگر کاهش وزن بدن صرفاً به علت کاهش اخذ غذا نیست.

همان طور که Rybkin و همکارانش در سال

www.SID.ir

Archive of SID

۱۹۹۷ نشان داده‌اند، کاهش وزن بدن موش‌های محروم از غذا بعد از پایان محرومیت تغذیه به حالت عادی بر می‌گردد. در حالی که در موش‌های استرس دیده کاهش وزن بدن قابل برگشت نبود [۹]. در واقع در این تحقیق مشخص گردید که استرس قبل از تولد علاوه بر اختلال درمکانیسم‌های اخذ غذا و آب، مکانیسم‌های مسئول حفظ بدن را نیز مختل می‌کند که این تغییرات قابل برگشت نیست. یکی از مکانیسم‌های احتمالی برای این کاهش وزن آنست که افزایش سطوح CRH و mRNA مربوط به رسپتور نوع ۲ CRH در هیپوتالاموس شکمی میانی به علت بالا بودن سطح کورتیکوسترون در موش‌های PS باعث فعال شدن رسپتورهای نوع ۲ CRH شده و موجب فعال سازی سیستم عصبی سمپاتیک و افزایش ترموژنز در بافت چربی قهوه‌ای می‌گردد و به عبارتی مصرف انرژی تسهیل می‌شود و وزن بدن کاهش می‌یابد. در هر حال جهت روشن شدن مکانیسم‌های دقیق نیاز به تحقیقات بیشتری در آینده است.

با توجه به تحقیقات قبلی محققین [٦، ٨ و ١٤] فرزندانی که مادران آنها در دورهٔ بارداری استرس دیده‌اند به اختلالات روانی و هورمونی مبتلا می‌شوند و تغییر در اندازه برخی از هسته‌های دیانسفالی و در اندازه نورون‌ها و ارتباطات سیناپسی آنها نیز گزارش شده است. فرزندان PS با توجه به نتایج این پژوهش مقادیر کافی غذا برای رشد و نمو اندام‌های خود از جمله CNS دریافت نمی‌کنند لذا شایسته است از طرف مجامع بین‌المللی و افراد مسئول اقدامات لازم جهت پیشگیری از قرار گرفتن مادران باردار به هنگام بروز جنگ‌ها، در معرض خشونت‌ها و استرس‌های مختلف دیگر از جمله افسردگی و تنهایی به عمل آید و محیط‌های مطلوب و آرام همراه با مراقبت‌های اولیه بهداشتی و درمانی برای مادران باردار فراهم گردد تا فرزندان حاصل در نسل‌های آتی با رشد و نمو کافی کمتر دچار اختلالات روانی و جسمی شوند و بتوانند افراد کارآمد و مفیدی برای جوامع انسانی باشند.

منابع

[1] Aramrio, A. Restrepo, C. Castellanos, J.M. and Balasch, J., Dissociation between adrenocorticotropin and corticosterone responses to restraint after previous chronic exposure to stress, ***Life Sci.,*** 36 (1985) 2058-2092.

[2] Bugnon, CD. Fellmann, A. Gauget, A. and Cordot, J., Ontogeny of the Corticoliberi neuroglandular system in rat brain, ***Nature,*** 198 (1982) 159-161.

[3] Glockner, R. and Karge, E., Influence of chronic stress before and/or during gestation on pregnancy outcome of young and old rats, ***J. Exp. Anim. Sci.,*** 34 (1991) 93-98.

[4] Henry, C. Kabbaj, M. Simon, H. Lemoal, M. and Maccari, S., Prenatal stress increases the hypothalamo – pituitary – adernal axis response in young and adult rats, ***J. Endocrinol,*** 6 (1994) 341-345.

[5] Hughes, R.N. and Berevidge, I.J., Sex and age dependent effects of prenatal exposure to caffeine on open-filed behavior, emergence latency and adernal weight in rats, ***Life Sci.,*** 47 (1990) 2075-2088.

[6] Huttenen, M.O. Niskanen, P. Prenatal foss of father and psychiatric disorders, ***Arch. Gen. Psychiat,*** 35 (1978) 429-431.

[7] Makino, S.M. Nishiama, K. Asaba, W., Gold and Kozo Hashimato. Altered expression of type 2 CRH receptor mRNA in the VMH by glucocorticoids and starvation, ***Am. J. Physiol.,*** 275 (1988) 1135-1145.

[8] Meier, A., Child psychiatric sequelae of maternal war stress, ***Acta Psychiatr Scand,*** 72 (1985) 505-511.

[9] Rybkin, Igor I., You Zhou, Julia Valaufova, Gennay N. Smogin, Donna H. Ryon, and Ruth

www.SID.ir

Archive of SID

B.S. Harrias, Effect of restraint stress on food intake and body witght is determined by time of day, ***Am. J. Physiol,*** 273 (1997) 1612-1622.

[10] Shimizu, N.Y. Omura, and Y. kai, Stress-induced anorexia in rats mediated by serotonergic mechanisms in the hypothalamus, ***Physiol Behav,*** 46 (1989) 835-841.

[11] Spencer, R.L. Miller, A.H. McEwen, B.S. Blanchard, R.J. Blanchar, D.C. And Sakai, R.R., Chronic social stress produces reductions in available Splenic type II corticosteroid reseptor binding and plasma corticosteroid binding globulin levels, ***Psychoneuroendocrinology,*** 21 (1992) 95-109.

[12] Takahashi, L.K. Turner, J.G. Kalin, N.H., Prenatal stress alters brain catecholaminergic activity and potentiates stress-induced behavior in adult rats, ***Brain Res.,*** 574 (1993) 66-71.

[13] Ursin, H. Olff, M. Psychology of coping and defense strategies, ***Neuropsychobiology,*** 28 (1993) 66-71.

[14] Weinstock, M., Does prenatal stress impair coping and regulation of hypothalamic-pituitary-adernal axis? ***Neurosci Biobehav Rev.,*** 21 (1997) 1-10.

[15] Weinstock, M. Poltyrev, T. Keshet, G.I. malool, R., Effect of naloxone on behavior and activation of H.P.A axis in prenatally-stressed rats exposed to novel environments, ***Molecular Genetic and Neurobiological Advances,*** New York, (1996).

www.SID.ir