مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۰، شماره۴، تیر ۱۳۹۴(شماره پی در پی۹۹)

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:13 IRST on Sunday December 13th 2015

# تأثیر استرس دوران بارداری بر آستانه تشنج و تکامل هیپوکامپ فرزندان موش‌ها

**مجتبی کهالی[۱]، شهربانو عریان[۱]، سید همایون صدرایی[۲]، غلامرضا کاکا[۲*]، سحر پارسایی[۳]، هما محسنی کوچصفهانی[۳]**

[۱] گروه فیزیولوژی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران ، [۲] گروه علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران، [۳] گروه زیست تکوین، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۱۱/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۳/۳۱

**چکیده:**

**زمینه و هدف:** اثر استرس بر تغییر فعالیت سیستم عصبی ممکن است به دلیل تغییر در ساختمان دستگاه عصبی باشد. در این تحقیق، اثر استرس مادر در دوران بارداری بر ساختار هیپوکامپ و آستانه تشنج فرزندان آنها مورد بررسی قرار گرفت.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی تعداد ۳۰ موش باردار به دو گروه تقسیم شدند. گروه استرس ندیده و گروه استرس دیده، که از روز صفر بارداری به مدت ۱۴ روز، روزی یک ساعت استرس بی‌حرکتی را تجربه کردند. آزمایش آستانه تشنج در فرزندان به وسیله تزریق داروی پنتیلن تترازول(PTZ) انجام شد. جهت بررسی تکوین هیپوکامپ، فرزندان موش‌ها به سه گروه تقسیم شدند. گروه شاهد که مادر استرس ندیده بود و فرزندان نیز PTZ دریافت نکردند. گروه شم که مادر استرس ندیده، ولی فرزندان PTZ دریافت کرده بودند و گروه تجربی که هم مادر استرس دیده و هم فرزندان PTZ دریافت کردند. پس از آزمایش تشنج، فرزندان با کلروفورم کشته شدند و مغز آنها در محلول بوئن تثبیت گردید و پس از طی مراحل پردازش بافتی، برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و با روش هماتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی شد. ضخامت لایه های پیرامیدال و گرانولار هیپوکامپ با استفاده از نرم‌افزار موتیک(Motic) اندازه‌گیری شدند و نیز تعداد سلول‌ها در این لایه‌ها و تعداد عروق خونی در لایه‌های مولکولار و پلی‌مورفیک شمارش گردیدند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون آماری تی و آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** افزایش معنی‌دار آستانه تشنج در فرزندانی که مادران آنها تحت استرس قرار گرفته بودند در مقایسه با فرزندانی که مادرانشان تحت استرس قرار نگرفته بودند دیده شد($p<۰/۰۰۱$). هم‌چنین میانگین ضخامت لایه‌های پیرامیدال و گرانولار هیپوکامپ در گروه تجربی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. تعداد سلول های نواحی مختلف لایه‌های پیرامیدال و گرانولار هیپوکامپ در گروه تجربی در مقایسه با گروه‌های شم و شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد($p<۰/۰۰۱$).

**نتیجه‌گیری:** استرس دوران بارداری می‌تواند سبب افزایش آستانه تشنج فرزندان و نیز اختلال در روند تکوین و ساختار هیپوکامپ آنها شود.

**واژه‌های کلیدی:** آستانه تشنج، استرس، پنتیلن تترازول، بارداری، هیپوکامپ.

[*] **نویسنده مسئول: دکتر غلامرضا کاکا**، تهران، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تهران، گروه علوم تشریح
**Email:** gh_kaka@yahoo.com

Archive of SID



www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:13 IRST on Sunday December 13th 2015

**مقدمه**

استرس، به عنوان آشفتگی روحی یا عاطفی تعریف می‌شود که در پاسخ به عوامل زیان‌آور خارجی و هم‌چنین محرّک یا موقعیت ایجاد کننده آن رخ می‌دهد(۱). استرس تهدیدی برای موجودات زنده در زندگی آنها می‌باشد(۲). بسته به نوع استرس، مکانیسم‌های متعددی برای حفظ هموستازی بدن برای به حداقل رساندن اثرات استرس وجود دارد، هم‌چنین باعث افزایش ترشح گلوکوکورتیکوئیدها می‌شود(۳). گلوکوکورتیکوئیدها به راحتی از سد خونی و مغزی عبور می‌کنند و بر روی CNS عمل می‌کنند(۴).

استرس دوران بارداری مادر ضمن افزایش سطح گلوکوکورتیکوئید در جنین، اثرات زیان‌باری روی ساختار عصبی دارد که منجر به تغییرات مورفولوژیکی در هیپوکامپ و دیگر مناطق مغزی جنین می‌شود که برخی از این اختلالات تا بزرگسالی نیز بروز نمی‌کند(۵). استرس باعث آپوپتوز سیستم عصبی می‌شود که در این میان نوروترانسمیتر گلوتامات و گاماآمینوبوتریک اسید[1] بقای نورونی و آپوپتوز را تنظیم می‌کند(۷ و۶). تحقیقات نشان می‌دهند که انواع استرس‌های فیزیکی ـ محیطی اعمال شده در دوران جنینی پاسخ‌های رفتار بعدی موجودات زنده را تحت تأثیر قرار می‌دهند(۸). برخی عوامل استرس‌زا که در حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل؛ نور شدید، گرمای سوزاننده، شوک الکتریکی، سر و صدا، شنا در آب سرد، بی حرکتی و غیره می‌باشند(۹). هنگامی که شخصی با عوامل استرس‌زا مواجه می‌شود، دو آبشار اصلی فیزیولوژیک در مغز وی رخ می‌دهد، یکی سیستم عصبی خودکار و آزاد شدن کاتکول آمین‌ها (اپی‌نفرین و نوراپی نفرین‌ها) و دومی شامل محور HPA[2]، هورمون‌های آزاد کننده کورتیکوتروپین[3]، آدرنوکورتیکوتروپین هورمون[4] و کورتیزول می‌باشد(۱۰). تغییر فعالیت محور HPA در نتیجه استرس دوران بارداری، ممکن است سبب تغییراتی در ساختار و عملکرد گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی شود(۱۱). نتایج یک مطالعه نشان داده است که در موش‌هایی که پیش از تولد استرس دیده‌اند، به علت کاهش رسپتورهای گلوکوکورتیکوئیدی، فیدبک مهاری هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین تضعیف شده و سطح پلاسمایی کورتیکوسترون بالا رفته و از این رو در سازش با محیط جدید از خود ضعف نشان می‌دهند(۱۲). تحقیق‌ها نشان داده‌اند که استرس مزمن دوره بارداری با تغییر نوروترانسمیترها و ساختارهای نورونی در مسیرهای عصبی، سبب به وجود آمدن بیماری‌ها و بروز اختلالات بسیاری در فرزندان می‌شود(۱۳). از سوی دیگر استرس وارد شده به مادر سبب تغییراتی در رشد بافت‌های جنینی

1- Gamma-Amino Butyric acid (GABA)
**2-**Hypothalamic–Pituitary–Adrenal Axis
3-Corticotropin-releasing hormone (CRH)
4-Adrenocorticotropic hormone (ACTH)

Archive of SID



www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:13 IRST on Sunday December 13th 2015

در مغز و غدد فوق کلیوی و تغییرات نوروتوکسیک در نورون های مغزی جنین می‌شوند(۱۴). مطالعه‌ها نشان داده‌اند که استرس‌های حاد از جمله استرس بی حرکتی باعث تغییرات معنی‌داری در فعالیت حرکتی، اضطراب و اثرات ضد دردی می‌گردند (۱۵ و ۱۶).

تحقیق‌ها در مورد اثر استرس بر صرع نشان داده که استرس تجربی نظیر استرس شنا در حیوانات اثرات ضد صرعی دارد(۱۸ و۱۷). مطالعه‌هایی نیز روی مغز موش‌های صحرایی و سوری انجام شده که نشان داده استرس باعث کاهش فعالیت‌های تشنجی شده است(۱۹). در تحقیق حاضر تأثیر استرس در فرزندان موش‌هایی که استرس دیده‌اند را در مقایسه با فرزندانی که استرس ندیده‌اند مورد بررسی قرار گرفته است. هم‌چنین تغییرات هیستومورفومتری و آستانه تشنج فرزندانی که مادران آنها تحت استرس بودند با فرزندانی که مادران تحت استرس نبوده‌اند با استفاده از داروی پنتیلن تترازول[1] بررسی شد. یکی از مناطق مغز که استرس دوران بارداری مادر روی آن تأثیر می‌گذارد هیپوکامپ می‌باشد که در این مطالعه شمارش تعداد سلول‌ها و عروق خونی لایه‌های مختلف هیپوکامپ نیز مورد بررسی قرار گرفته است.

**روش بررسی**

در این مطالعه تجربی از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI استفاده شد. حیوانات از دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله(عج) تهیه شدند. دوره شبانه روزی طبیعی و در دمای ۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد با آب و غذای کافی نگهداری شدند. تمامی‌آزمایش‌ها و تجربه‌های صورت گرفته بر اساس دستورالعمل کمیته کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله طراحی و به کار گرفته شد. تعداد ۳۰ سر موش ماده به وزن ۳۰ ـ۲۵ گرم به صورت تصادفی انتخاب و به نسبت ۳ به ۱ با موش‌های نر درون قفس قرار داده شدند تا جفت‌گیری انجام شود. با مشاهده پلاک واژنی و مثبت بودن اسمیر واژنی روز صفر حاملگی تعیین شد. موش‌های ماده باردار به دو گروه استرس دیده و بدون استرس تقسیم شدند. به منظور وارد کردن استرس مزمن (استرس بی حرکتی)[2] موش‌های باردار به مدت ۱۴ روز از روز صفر تا روز ۱۴ بارداری، روزانه یک ساعت درون لوله پولیکا قرار گرفتند.[3] برای جلوگیری از تطابق موش‌ها، استرس در ساعت‌های مختلفی اعمال شد. فرزندان موش‌ها تحت شرایط طبیعی متولد شدند و پس از رسیدن به سن ۸ هفته در سه گروه قرار گرفتند. گروه شاهد؛ بدون استرس دوران بارداری و بدون تزریق داروی پنتیلن تترازول، گروه شم؛ بدون استرس دوران بارداری همراه با تزریق PTZ به منظور اندازه‌گیری آستانه تشنج به صورت

1- Pentylenetetrazol (PTZ)
2- Immobilization Stress
3-Immobilization Stres

Archive of SID



www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:13 IRST on Sunday December 13th 2015

وریدی تا زمانی که حملات تشنجی آغاز شود. گروه تجربی؛ تحت استرس دوران بارداری و تزریق PTZ جهت اندازه‌گیری آستانه تشنج. آستانه تشنج فرزندان موش‌هایی که مادران آنها تحت استرس دوره بارداری قرار گرفته بودند(گروه تجربی، تعداد ۸ سر) با فرزندان موش‌هایی که تحت استرس دوره بارداری قرار نگرفته بودند(گروه شم، تعداد ۸ سر) باداروی پنتیلن تترازول به عنوان شاخص اندازه‌گیری آستانه تشنج، مورد مقایسه قرارگرفت. در این مطالعه اندازه‌گیری آستانه تشنج با تزریق PTZ میزان ۰/۵ درصد به ورید دمی موش به کمک سر سوزن ۳۰ و با سرعت ثابت ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه صورت پذیرفت. تزریق PTZ هنگام مشاهده شروع تشنج از اندام جلویی به کل بدن متوقف شد. میزان PTZ تزریق شده تا زمانی که حملات شدید تشنجی مشاهده شود، اندازه‌گیری شد. سپس فرزندان هر سه گروه(تعداد=۴) با رعایت ملاحظات اخلاقی با کلروفورم کشته و با جراحی مغزها خارج شدند و به مدت ۴۸ ساعت در محلول بوئن تثبیت گردیدند و پس از پردازش بافتی، قالب‌گیری از مغزها در داخل پارافین انجام گرفت. سپس به وسیله میکروتوم برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر به صورت کرونال تهیه گردید. برش‌ها از ناحیه هیپوکامپ به صورت ۱ به ۱۵ روی لام قرار داده شدند. سپس با استفاده از روش هماتوکسیلین‌ائوزین( H&E) مقاطع هیپوکامپ مغز رنگ آمیزی گردید. عکس‌برداری از مقاطع هیپوکامپ فرزندان به وسیله میکروسکوپ مجهز به دوربین انجام شد. سپس به وسیله نرم‌افزار موتیک عکس‌ها از نظر ضخامت لایه‌ها و تعداد سلول‌های لایه‌های پیرامیدال و گرانولار هیپوکامپ در فرزندان بررسی شدند. ضخامت لایه های گرانولار شکنج دندانه‌ای و لایه‌های پیرامیدال CA1، CA2 و CA3 با بزرگ‌نمایی ۲۰۰ برابر با نرم افزار موتیک اندازه‌گیری شد. تعداد سلول‌های لایه‌های مختلف پیرامیدال و گرانولار هیپوکامپ با استفاده از لنز شیئی x40 در میدانی به ابعاد ۲۰× ۲۳ میکرومتر برابر با ۴۶۰ میکرومتر مربع شمارش گردید. هم‌چنین تعداد عروق خونی در نواحی اطراف لایه‌ها در لایه‌های مولکولار و پلی مورفیک با استفاده از لنز شیئی X20 شمارش شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری تی تست و آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها**

در مطالعه رفتاری، بررسی آستانه تشنج فرزندانی که مادران آن‌ها تحت استرس بی‌حرکتی در دوران بارداری بودند افزایش معنی‌داری (۱/۲۵±۵۰/۴۴) نسبت به گروهی که مادران آن ها در دوره بارداری خود استرس ندیده‌اند ۰/۷۴±۴۱/۷۲) نشان داد($p<0/001$) ( نمودار ۱).

Archive of SID



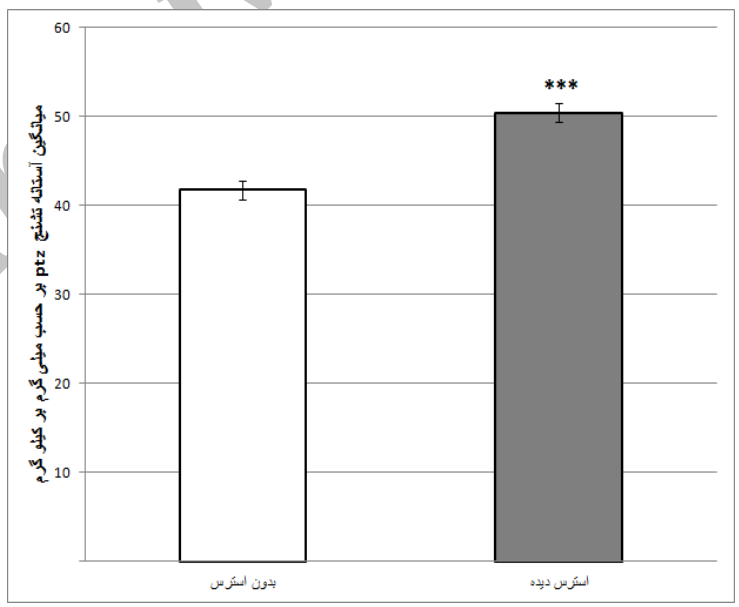
www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:13 IRST on Sunday December 13th 2015

میانگین ضخامت لایه‌های پیرامیدال و گرانولار هیپوکامپ در گروه استرس دیده(تجربی) نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. این افزایش در لایه گرانولار DG و پیرامیدال CA1 برابر (p<۰/۰۰۱) و در لایه پیرامیدال CA2 برابر (p<۰/۰۱) بود. هم‌چنین در لایه پیرامیدال CA3 نیز افزایش ضخامت مشاهده شد که این افزایش معنی‌دار نبود(شکل۱). میانگین و انحراف معیار استاندارد در جدول ۱ آمده است.

میانگین تعداد سلول‌ها در تمام نواحی مختلف لایه‌های پیرامیدال و گرانولار هیپوکامپ به طور واضح در گروه استرس دیده(تجربی) در مقایسه با گروه شاهد، کاهش معنی‌داری را نشان داد(p<۰/۰۰۱)(شکل۲). میانگین و انحراف معیار استاندارد در جدول ۱ آمده است.

میانگین تعداد عروق خونی موجود در گروه نوزادانی که مادران استرس دیده بودند(تجربی) کاهش معنی‌داری را در لایه‌های مولکولار و پلی مورفیک مختلف نواحی CA2(۵/۱۲±۰/۹۵) و DG (۸/۴۵±۰/۴۹) در مقایسه با گروه شاهد CA2 (۹/۸۴±۰/۸۶) و DG(۱۲/۸۱±۱/۳۶) نشان داد. در حالی که بین گروه شاهد با گروه شم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد(شکل۳). در اینجا تنها عروقی شمارش شدند که مساحت آنها بیشتر از ۱۵ میکرومتر مربع می‌باشد.



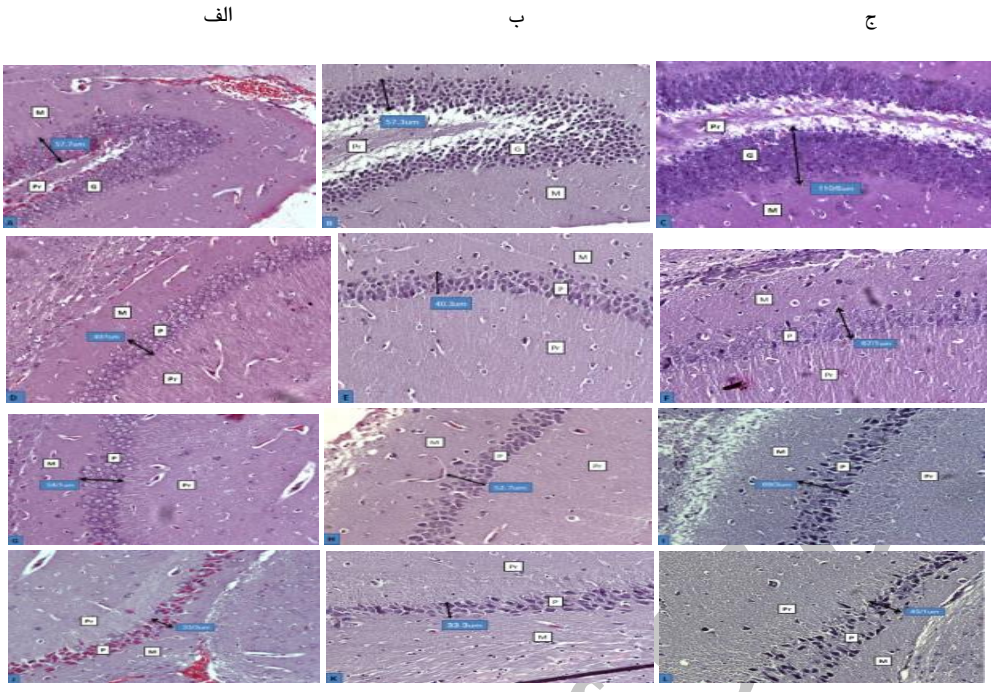

**نمودار۱: میانگین آستانه تشنج پس از دریافت PTZ بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم در نوزادان موش‌ها در گروه‌های استرس دیده و بدون استرس**

*** نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۰۱) بین دو گروه می‌باشد( تعداد= ۸ سر)

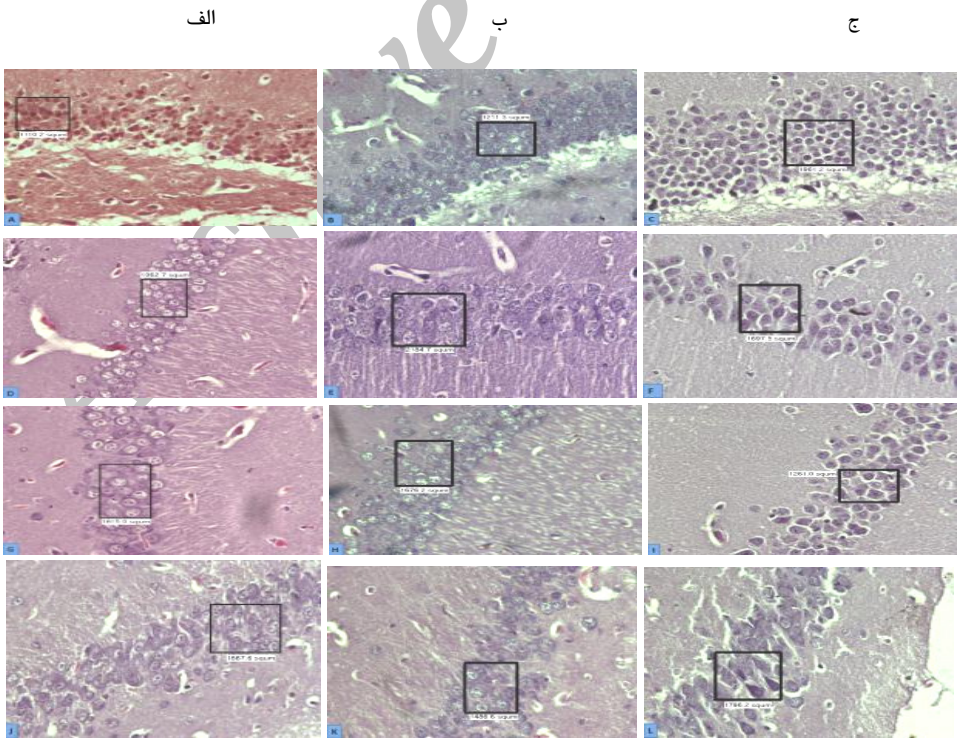
Archive of SID


www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:13 IRST on Sunday December 13th 2015




**شکل۱: تصاویر میکروسکپی از لایه‌های مختلف هیپوکامپ در گروه های مختلف جهت بررسی ضخامت لایه‌های پیرامیدال و گرانولار**
الف: سمت چپ (A,D,G,J) گروه شاهد، ب: وسط(B,E,H,K) گروه شم و ج: سمت راست(C,F,I,L) گروه تجربی می‌باشد که به ترتیب لایه های شکنج دندانه دار(DG)، CA1، CA2 و CA3 نشان داده شده است. M=لایه مولکولار، P= لایه پیرامیدال، Pr= لایه پلی مورفیک، G= لایه گرانولار. (رنگ آمیزی H&E , x200)

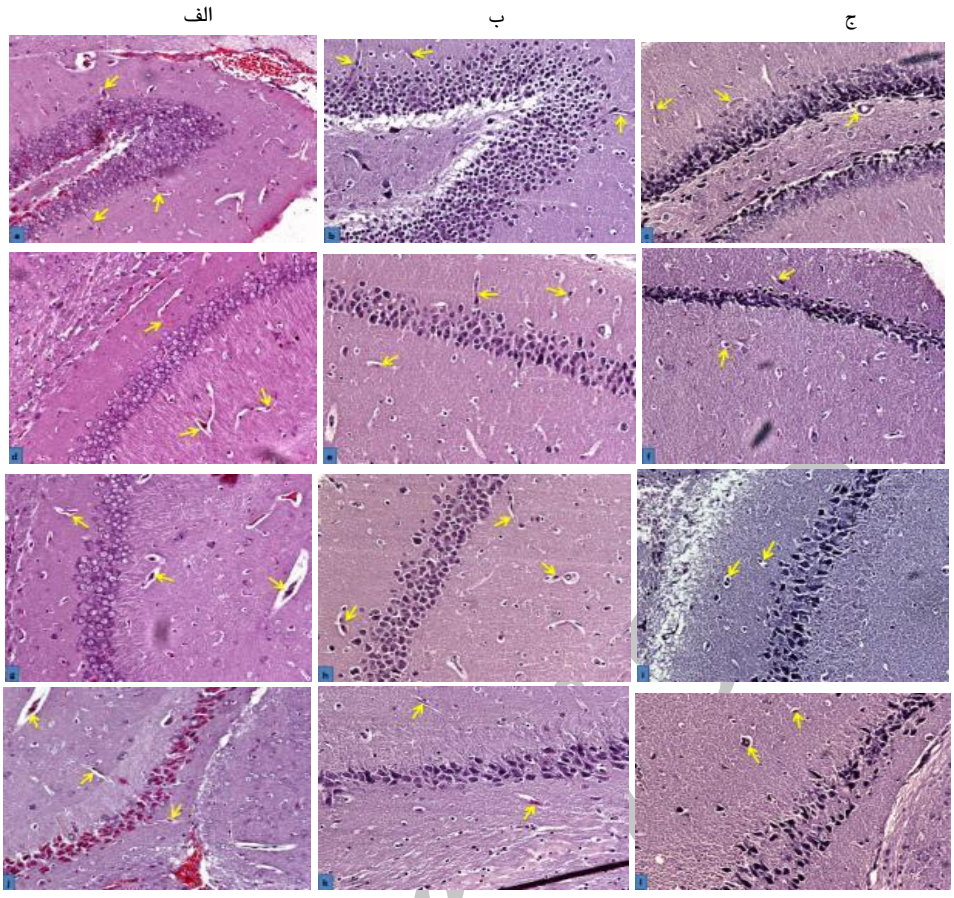



**شکل۲: تصاویر میکروسکپی از لایه های پیرامیدال و گرانولار هیپوکامپ در گروه های مختلف جهت شمارش تعداد سلول ها**. الف: سمت چپ (A,D,G,J) گروه شاهد، ب: وسط(B,E,H,K) گروه شم وج: سمت راست(C,F,I,L) گروه تجربی می‌باشد که به ترتیب لایه های گرانولار شکنج دندانه دار(DG)، و لایه های پیرامیدال CA1، CA2 و CA3 نشان داده شده است. (رنگ آمیزی H&E، x400)



www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:13 IRST on Sunday December 13th 2015




**شکل۳: تصاویر میکروسکپی از لایه های مختلف هیپوکامپ در گروه های مختلف جهت بررسی تعداد عروق خونی.** الف: سمت چپ(a,d,g,j) گروه شاهد، ب: وسط(b,e,h,k) گروه شم و ج: سمت راست(c,f,i,l) گروه تجربی می‌باشد که به ترتیب لایه های گرانولار شکنج دندانه دار(DG)، و لایه‌های پیرامیدال CA1، CA2 و CA3 نشان داده شده است. علامت فلش نمایانگر عروق خونی می‌باشد. (رنگ آمیزی H&E، x200)

**جدول۱: میانگین و انحراف معیار ضخامت و تعداد سلول ها در لایه های پیرامیدال و گرانولار و میانگین و انحراف معیار تعداد عروق خونی در لایه های مولکولار و پلی مورفیک هیپوکامپ نشان داده شده است**

| متغیرها | لایه ها / گروه | CA1 | CA2 | CA3 | DG |
|---|---|---|---|---|---|
| میانگین ضخامت لایه های پیرامیدال و گرانولار هیپوکامپ | شاهد | ۳۱/۸۲۱±۰/۹۸ | ۴۱/۴۴۶±۳/۳۶ | ۳۸/۸۶۲±۲/۲۲ | ۴۱/۴۶۰±۱/۴۷ |
| | شم | ۳۲/۳۹۳±۱/۳۹ | ۴۳/۰۲۸±۱/۶۷ | ۴۰/۶۳۶±۱/۸۲ | ۴۴/۹۵۹±۲/۰۳ |
| | تجربی | ۴۱/۴۲۱±۲/۱۱ *** | ۵۵/۳۴۳±۳/۴۸ ** | ۴۷/۶۵۲±۲/۹۴ | ۵۴/۷۵۵±۲/۹۵ *** |
| | سطح معنی‌داری | P<۰/۰۰۱ | P<۰/۰۱ | ------ | P<۰/۰۰۱ |
| میانگین تعداد سلولها در لایه های هیپوکامپ | کنترل | ۵۶/۲۴±۱/۸۷۰ | ۴۸/۲۱±۲/۷۶۱ | ۴۳/۱۰±۲/۲۷۷ | ۸۷/۰۳±۲/۹۵۴ |
| | شم | ۵۵/۴۸±۲/۶۹۱ | ۴۷/۵۵±۲/۰۵۷ | ۴۰/۸۰±۱/۸۳۷ | ۸۰/۹۵±۵/۵۹۳ |
| | تجربی | ۳۵/۵۳±۳/۳۷۵ *** | ۳۲/۳۹±۲/۵۰۲ *** | ۲۵/۵۴±۱/۸۲۶ *** | ۵۴/۰۹±۱/۶۶۴ *** |
| | سطح معنی‌داری | P<۰/۰۰۱ | P<۰/۰۰۱ | P<۰/۰۰۱ | P<۰/۰۰۱ |
| میانگین تعداد عروق خونی در لایه های هیپوکامپ | کنترل | ۹/۱۷±۰/۶۴۷ | ۹/۸۴±۰/۸۶۱ | ۱۰/۳۲±۰/۹۳۶ | ۱۲/۸۱±۱/۳۶۵ |
| | شم | ۹/۰۷±۰/۷۱۹ | ۸/۹۳±۰/۶۰۹ | ۹/۷۹±۰/۵۳۲ | ۱۱/۵۸±۱/۰۸۶ |
| | تجربی | ۷/۵۵±۰/۶۴۱ | ۵/۱۲±۰/۹۵۷ *** | ۷/۱۶±۰/۷۸۵ | ۸/۴۵±۰/۴۹۰ * |
| | سطح معنی‌داری | ------- | P<۰/۰۰۱ | ------- | P<۰/۰۵ |

**** و***** نشان دهنده معنی‌دار بودن در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد**



www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:13 IRST on Sunday December 13th 2015

**بحث**

استرس بی‌حرکتی می‌تواند باعث بروز تغییراتی در آستانه تشنج فرزندان و هم‌چنین موجب تغییرات هیستومورفولوژی در ساختار هیپوکامپ فرزندان شود. در این تحقیق مشاهده شد که استرس دوران بارداری سبب افزایش آستانه تشنج فرزندان می‌شود که این امر به وسیله داروی PTZ به عنوان شاخص اندازه‌گیری آستانه تشنج مشاهده شد. مطالعه‌های قبلی نشان داده‌اند که استرس‌هایی نظیر استرس شنا، نیز اثرات ضد تشنجی در حیوانات دارند که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد. استرس شنا در رت به طور واضح سطح آلو تتراهیدرو داکسی کورتیکوسترون(THDOC)[1] پلاسما را افزایش می‌دهد و آستانه تشنج PTZ را بالا می‌برد(۲۰). THDOC فعالیت‌های ضدتشنجی در انواع مدل‌های تشنج حیوانات دارد. از آنجایی که THDOC از دئوکسی کورتیکوسترون(DOC) مشتق می‌شود می‌توان نتیجه گرفت که DOC خواص ضد تشنجی دارد(۲۱). DOC یک استروئید آدرنال می‌باشد که سنتز آن در جریان استرس افزایش می‌یابد. جداسازی و سنتز شیمیایی DOC اثر حفاظتی در برابر تشنج حاصل از PTZ در رت نشان داده است. با این حال مکانیسم این عمل مبهم باقی مانده است(۱). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد رسپتور $GABA_A$ نورواستروئید به دست آمده از دی اوکسی کورتیکوسترون را تنظیم می‌کند که نقش مهمی را در تغییرات مربوط به استرس در کنترل تشنج بر عهده دارد. کاهش متوالی سوخت و ساز به وسیله 5α- ردوکتاز و 3α- هیدروکسی استروئید اکسیدو ردوکتاز[2] به سمت 5α- دهیدرو داکسی کورتیکوسترون(DHDOC)[3] و THDOC می‌باشند که رسپتور $GABA_A$ تنظیم کننده نورواستروئید، همراه با خواص ضد تشنجی می‌باشند. تحقیقات نشان داده‌اند که وقتی دوز مختصری از دی اوکسی کورتیکوسترون تولید شود، سطح THDOC و آستانه تشنج PTZ را افزایش می‌دهد. تیمار با فیناستراید که یک مهار کننده 5α- ردوکتاز می‌باشد تبدیل DOC به DHDOC را مهار می‌کند و باعث می‌شود که اثرات ضد تشنجی معکوس شود. فیناستراید عکس فعالیت‌های ضد تشنجی DOC را نشان می‌دهد(۲۲). گزارش‌هایی نیز مغایر با نتایج تحقیق حاضر در جهت کاهش آستانه تشنج فرزندان در اثر استرس بارداری مادر ارایه شده‌اند، به این صورت که قرار گرفتن موش‌های صحرایی در معرض انواع مختلف استرسورهای حاد مثل محرک‌های دردناک آستانه ایجاد تشنج‌های القایی با لیتیوم ـ پیلوکارپین را کاهش داده است(۲۳). تحقیق‌ها نشان می‌دهد که استرس در موش‌های صحرایی باردار می‌تواند فعالیت محور HPA را تحت تأثیر قرار دهد که این امر نه تنها منجر به فعالیت شدید این محور در مادر می‌شود بلکه فعالیت این محور در نوزادان نیز باعث می‌شود که نسبت به صرع مستعدتر شوند (۲۵ و ۲۴).

1- Allotetrahydrodeoxy Corticosterone(THDOC)
2-3α-Hydroxysteroid Oxidoreductase
3-5α-DihydrodeoxyCorticosterone

Archive of SID



www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:13 IRST on Sunday December 13th 2015

هیپوکامپ بخشی از مغز است که تکوین آن طولانی بوده و توانایی تولید نورون‌های جدید در بزرگسالی را دارا می‌باشد(۲۶). نتایج شمارش سلولی و تعداد عروق خونی نشان می‌دهد که استرس دوران بارداری می‌تواند سبب تغییراتی در ساختار هیپوکامپ شده و روند نوروژنز آن در جریان استرس کاهش می‌یابد(۲۷). در راستای تحقیق حاضر سالجو و همکاران نشان دادند که قرار گرفتن در معرض استرس سر و صدا باعث مرگ نورونی و آپوپتوز سلول‌های DG ، CA1 و CA3 در هیپوکامپ می‌شود(۲۸). با توجه به کاهش عروق خونی مشاهده شده در تحقیق حاضر این احتمال وجود دارد که کاهش تعداد سلول‌ها در لایه های هیپوکامپ ناشی از کاهش خون رسانی در این نواحی باشد.

مطالعه بلنوئه و همکاران در بررسی مورفولوژیکی برش‌های انجام گرفته از هیپوکامپ نوزادان که در روز اول تولد با میکروسکوپ نوری انجام گرفت نشان داد که شکل یافتگی نورون‌ها در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل کمتر بوده است به ویژه در نواحی $CA_1$ و $CA_3$ هیپوکامپ به دلیل دارا بودن نورون‌های هرمی بیشتر جلب توجه نموده است(۲۹). این نتایج هم‌سو با نتایج تحقیق حاضر در زمینه کاهش تعداد سلول‌ها می‌باشد.

مطالعه‌های دیگر نشان داده‌اند که استرس پس از تروما(PTSD) تغییراتی را در حجم هیپوکامپ و کورپوس کالوزوم ایجاد می‌کند(۳۰). هم‌چنین تصاویر رزونانس مغناطیسی(MRI) در مطالعه انجام شده در افراد دچار استرس پس از جراحت کاهش حجم هیپوکامپ را نشان داده است(۳۱).

با توجه به این که استرس‌هایی نظیر استرس سر و صدا سبب افزایش سطح کورتیکوسترون پلاسما می‌گردد قرار گرفتن در معرض کورتیکوسترون بالا در طی دوره نوزادی موجب مهار تکثیر سلول‌های عصبی در مناطقی از مغز، همراه با نوروژنز پس از تولد می‌شود(۳۲). تغییرات نوروپاتولوژیک در اثر استرس طولانی ممکن است ناشی از عمل نوروتوکسیک گلوکوکورتیکوییدها باشد که از غده آدرنال در هنگام استرس مادر از طریق جفت به داخل گردش خون جنین آزاد می‌شود(۳۳).

قرار گرفتن در معرض گلوکوکورتیکوئیدهای اگزوژن که در هنگام استرس آزاد می‌شوند، باعث مهار رگزایی در مغز گردیده، هم‌چنین باعث آپوپتوز عروق مغزی می‌شوند(۳۵ و ۳۴). قرار گرفتن در معرض استرس‌های مزمن اجتماعی باعث کاهش ۳۰ درصد از عروق هیپوکامپ می‌شود (۳۶). با این حال درک اثرات گلوکوکورتیکوئیدها در دوران قبل از تولد و قرار گرفتن در معرض استرس هنگام بزرگسالی بر عروق مغزی، به دلیل عملکرد عروقی در تعمیر و نگهداری از نورون‌ها مهم می‌باشد(۳۷). طبق نتایج ولف و همکاران، استرس موجب افزایش تراکم عروق خونی در آمیگدال و کاهش عروق خونی در هیپوکامپ شد هم‌چنین شواهد درون تنی نشان می‌دهد که هورمون‌های استروئیدی که در هنگام استرس آزاد می‌شوند، رگزایی را مهار می‌کنند(۳۸) که این نتایج با

Archive of SID



www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:13 IRST on Sunday December 13th 2015

نتایج تحقیق حاضر در جهت کاهش تعداد عروق خونی در هیپوکامپ همسو می‌باشد. دلیل کاهش تراکم رگ‌های خونی در هیپوکامپ هنوز در حال بررسی است. مطالعه‌های اخیر نشان می‌دهند که درمان مزمن با دوز بالای کورتیکوسترون به طور چشم‌گیری تکثیر سلول‌های اندوتلیال را در هیپوکامپ رت کاهش می‌دهد(۳۴). بنابراین کورتیکوسترون‌ها به عنوان مهار کننده‌های قوی آنژیوژنز عمل می‌کنند(۳۹).

از آنجایی که در هیپوکامپ تراکم بالایی از رسپتورهای گلوکوکورتیکوئیدی وجود دارد و با توجه به این که نوروترانسمیترها متأثر از گلوکوکورتیکوئیدها می‌باشند و استرس جنینی میزان گلوکوکوتیکوئیدها را به شدت تغییر می‌دهد، بنابراین به عنوان یک عامل محیطی، استرس می‌تواند در تشکیل مدارها و تشکیل رشته های عصبی اختلال ایجاد کند و موجب تغییرات رفتاری و بافتی در لایه‌های مختلف هیپوکامپ گردد(۴۰). در این مطالعه محدودیت‌هایی وجود داشت که مانع مطالعه بر روی جنین‌ها و مطالعات رفتاری بر روی نوزادان گشت. مکانیسم‌های مختلفی که باعث تغییر در ساختار بافتی هیپوکامپ مغز می‌شود و اندازه‌گیری میزان دئوکسی کورتیکوسترون خون در گروه‌های مختلف پیشنهاد می‌شود.

## نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که استرس دوران بارداری می‌تواند سبب افزایش آستانه تشنج فرزندان شود. استرس دوران بارداری موجب کاهش تعداد سلول‌ها در لایه‌های مختلف هیپوکامپ و نیز کاهش ضخامت لایه‌های هیپوکامپ در فرزندان می‌گردد. هم‌چنین استرس دوران بارداری موجب کاهش تعداد عروق خونی در لایه‌های CA2 و DG می‌گردد.

## تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری مصوب دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله واحد تهران بود که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد.

Archive of SID



www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:13 IRST on Sunday December 13th 2015

**REFRENCES:**

1.Selye H. The stress concept.Can Med Assoc J 1976; 115(8): 718.
2.Latendresse G. The interaction between chronic stress and pregnancy: preterm birth from a biobehavioral perspective. J Midwifery Womens Health 2009; 54(1): 8-17.
3.Levine S. Influence of psychological variables on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Eur J Pharmacol 2000; 405(1-3): 149-60.
4.McEwen BS. Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain. Prog Brain Res 2000; 122: 25-34.
5.Wadhwa PD, Garite TJ, Porto M, Glynn L, Chicz-DeMet A, Dunkel-Schetter C, Sandman CA. Placental corticotropin-releasing hormone (CRH), spontaneous preterm birth, and fetal growth restriction: a prospective investigation. Am J Obstet Gynecol 2004; 191(4): 1063-9.
6.Engelbrecht AM, Smith C, Neethling I, Thomas M, Ellis B, Mattheyse M, et al. Daily brief restraint stress alters signaling pathways and induces atrophy and apoptosis in rat skeletal muscle. Stress 2010; 13(2): 132-41.
7.Zhang Y, Bhavnani BR. Glutamate-induced apoptosis in neuronal cells is mediated via caspase-dependent and independent mechanisms involving calpain and caspase-3 proteases as well as apoptosis inducing factor (AIF) and this process is inhibited by equine estrogens. BMC Neurosci 200615; 7: 49.
8. Guesdon V[1], Meurisse M[2], Chesneau D[2], Picard S[2], Lévy F[2], Chaillou E[3]. Behavioral and endocrine evaluation of the stressfulness of single-pen housing compared to group-housing and social isolation conditions. Physiol Behav. 2015 Aug 1;147:63-70. doi: 10.1016/j.physbeh.2015.04.013. Epub 2015 Apr 9.
9. Bell SM[1], Edwards SW. Identification and Prioritization of Relationships between Environmental Stressors and Adverse Human Health Impacts. Environ Health Perspect. 2015 Apr 10. [Epub ahead of print]
10.Rui T, Gonglin H, Dan LI, Ti-Fei Y. A possible change process of inflammatory cytokines in the prolonged chronic stress and its ultimate implications forhealth. Scientific WorldJournal 2014; 2014: 780616.
11.Julie A. Markham, James I. Koenig. Prenatal stress: Role in psychotic and depressive diseases. Psychopharmacology (Berl) Author manuscript; available in PMC 2012 March 1. Published in final edited form as: Psychopharmacology (Berl) 2011; 214(1): 89–106.
12.Dorey R, Piérard C, Chauveau F, David V, Béracochéa D. stress-induced memory retrieval impairments: different time-course involvement of corticosterone and glucocorticoid receptors in dorsal and ventral hippocampus. Neuropsychopharmacology 2012; 37(13): 2870–80.
13.Rossi-George A, Virgolini MB, Weston D, Cory-Slechta DA. Alterations in glucocorticoid negative feedback following maternal pb, prenatal stress and the combination: a potential biological unifying mechanism for their corresponding disease profiles. Toxicol Appl Pharmacol. Author manuscript; available in PMC 2010 January 1. Published in final edited form as. Toxicol Appl Pharmacol 2009 January; 234(1): 117–27.
14.Habib KE, Gold PW, Chrousos GP. Neuroendocrinology of stress. Endocrinol Metab Clin North Am 2001; 30(3): 695-728.
15.Metz GA, Jadavji NM, Smith LK. Modulation of motor function by stress: a novel concept of the effects of stress and corticosterone on behavior. Eur J Neurosci 2005; 22(5): 1190-200.
16.Sevgi S, Ozek M, Eroglu L. L-NAME prevents anxiety-like and depression-like behavior in rats exposed to restraint stress. Methods Find Exp Clin Pharmacol 2006; 28(2): 95-9.
17.Reddy DS, Rogawski MA. Stress-induced deoxycorticosterone-derived neurosteroids modulate GABA(A) receptor function and seizure susceptibility. J Neurosci 2002; 22(9): 3795-805.
18.Reddy DS. The clinical potentials of endogenous neurosteroids. Drugs Today (Barc) 2002; 38(7): 465-85.
19.Reddy DS. Physiological role of adrenal deoxycorticosterone-derived neuroactive steroids in stress-sensitive conditions. Neuroscience 2006; 138(3): 911-20.
20.Pajand P. Mahmoud elahdadi salmani, hooman shajiee, hasan abiri, iran goudarzi, kataneh Abrari. Stress during first pregnancy increases seizure threshold in adult male offspring. Iran J Basic Med Sci 2014; 17(1): 34–40.
21.Rangappa P. Medical philately (medical theme on stamps). Corticosteroids. J Assoc Physicians India 2008; 56: 272.
22.Reddy DS, Rogawski MA. Stress-induced deoxycorticosterone-derived neurosteroids modulate GABA(A) receptor function and seizure susceptibility. J Neurosci 2002; 22(9): 3795-805.


www.SID.ir

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:13 IRST on Sunday December 13th 2015

*23.*Fournier NM, Galic MA, Kalynchuk LE, Persinger MA. Profound hypothermia determines the anticonvulsant and neuroprotective effects of swim stress. Brain Res 2008; 1240: 153-64.
24.Weinstock M. Alterations induced by gestational stress in brain morphology and behaviour of the offspring. Prog Neurobiol 2001; 65(5): 427-51.
25.Galic MA, Fournier NM, Martin LJ. Alpha2-adrenergic inhibition prevents the accompanied anticonvulsant effect of swim stress on behavioral convulsions induced by lithium and pilocarpine. Pharmacol Biochem Behav 2004; 79(2): 309-16.
26.Gould E. How widespread is adult neurogenesis in mammals?. Nat Rev Neurosci 2007; 8(6): 481-8.
27.McKinnon MC, Yucel K, Nazarov A, MacQueen GM. A meta-analysis examining clinical predictors of hippocampal volume in patients with major depressive disorder. J Psychiatry Neurosci 2009; 34(1): 41-54.
28.Säljö A, Bao F, Jingshan S, Hamberger A, Hansson HA, Haglid KG. Exposure to short-lasting impulse noise causes neuronal c-Jun expression and induction of apoptosis in the adult rat brain. J Neurotrauma 2002; 19(8): 985-91.
29.Belnoue L, Grosjean N, Ladevèze E, Abrous DN, Koehl M. Prenatal stress inhibits hippocampal neurogenesis but spares olfactory bulb neurogenesis. PLoS One 2013; 8(8): e72972.
*30.*Tsolaki M, Eleftheriou M, Karavida N. Alzheimer's dementia and post-traumatic stress disorder differences and similarities in neuroimaging. Hell J Nucl Med 2009; 12(1): 41-6.
31.Bremner JD, Innis RB, Southwick SM, Staib L, Zoghbi S, Charney DS. Decreased benzodiazepine receptor binding in prefrontal cortex in combat-related posttraumatic stress disorder. Am J Psychiatry 2000;157(7):1120-6.
32.Lee T, Jarome T, Li SJ, Kim JJ, Helmstetter FJ. Chronic stress selectively reduces hippocampal volume in rats: a longitudinal magnetic resonance imaging study. Neuroreport 2009 25; 20(17): 1554-8.
**33.** Zucchi FC[1], Yao Y, Ward ID, Ilnytskyy Y, Olson DM, Benzies K, Kovalchuk I, Kovalchuk O, Metz GA. Maternal stress induces epigenetic signatures of psychiatric and neurological diseases in the offspring. PLoS One. 2013;8(2):e56967.
34.Ekstrand J, Hellsten J, Tingström A. Environmental enrichment, exercise and corticosterone affect endothelial cell proliferation in adult rat hippocampus and prefrontal cortex. Neurosci Lett 2008; 442(3): 203-7.
35.Katychev A, Wang X, Duffy A, Dore-Duffy P. Glucocorticoid-induced apoptosis in CNS microvascular pericytes. Dev Neurosci 2003; 25(6): 436-46.
36.Czéh B, Abumaria N, Rygula R, Fuchs E. Quantitative changes in hippocampal microvasculature of chronically stressed rats: no effect of fluoxetine treatment. Hippocampus 2010; 20(1):174-85.
37.Zauner A, Daugherty WP, Bullock MR, Warner DS. Brain oxygenation and energy metabolism: part I-biological function and pathophysiology. Neurosurgery 2002; 51(2): 289-301.
38.Wolff JE, Laterra J, Goldstein GW. Steroid inhibition of neural microvessel morphogenesis in vitro: receptor mediation and astroglial dependence. J Neurochem 1992; 58(3):1023-32.
39.Ravinder T, Aramati B, Reddy M, Satish K, . Srivastava K, Ramana V. inhibition of aldose reductase prevents angiogenesis in vitro and in vivo. angiogenesis. Author manuscript; available in PMC 2012 May 1. Published in final edited form as. Angiogenesis 2011; 14(2): 209–21.
40.Cai Q, Huang S, Zhu Z, Li H, Li Q, Jia N, Liu J. The effects of prenatal stress on expression of p38 MAPK in offspring hippocampus. Int J Dev Neurosci 2008; 26(6): 535-40.


www.SID.ir

**Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)**

**Original Article**

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:13 IRST on Sunday December 13th 2015

# The Impact of Stress during Pregnancy on Children's' SeizureT and Developing Hippocampus in Mice Offsprings

**Kahali M[1], Oryan Sh[1], Sadraee SH[2], Kaka GH[2*], Parsaee S[3], Mohseni Kouchesfehani H[3]**

[1]Department of Physiology, Kharazmi University, Tehran, Iran, [2]Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran, [3]Department of Developmental Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran

Received: 28 Jan 2015 Accepted: 21 June 2015

## Abstract:

**Background & aim:** The effect of stress on the nervous system activity may be due to alterations in the structure of the nervous system. In this study, the effect of maternal stress was examined on the seizure threshold and hippocampal structure of their offspring during pregnancy.

**Methods:** In the present study, thirty pregnant mice were divided into two groups. The No Stress group and stress group which received one hour immobilization stress from 1 to 14 day of pregnancy. The seizure threshold test was performed on offspring by injection of Pantilen tetrazol (PTZ). To study the hippocampus development, the mice offsprings were divided into three groups: The control group mother received no immobilization stress and their offspring also received no PTZ. The Sham group received no immobilization stress on the pregnant rat but their offspring received PTZ. But in experimental group, the pregnant rat received immobilization stress and their offspring received PTZ too. At the end of the experiences, all offspring's were killed by chloroform and their hippocampus was fixed in boein solution. After processing a 5µm sections were prepared and stained by hematoxylin and eosin. The pyramidal and granular layers thickness in the Hippocampus were measured using Motic software and the number of cells in these layers and the number of blood vessels in the molecular and polymorphic layers were counted. The data were analyzed using ANOVA and T-test.

**Results:** a significant increase in seizure threshold was observed in offsprings whose mothers were under stress compared with offspring whose mothers were not under stress ($p< 0.001$). A significant increase in average thickness of hippocampal pyramidal and granular in the experimental group was observed compare with the control group ($p<0.001$). In addition, the mean thickness of pyramidal and granular layers of hippocampus significantly increased in the experimental group compared to control group. The number of cells in hippocampal and granular layers significantly decreased in the experimental group when compared with control and sham groups ($p<0.001$). Compared with the sham and control groups a significant reduction was observed in granular hippocampal pyramidal cells layers of different areas of experimental group ($p <0.001$).

**Conclusion:** Prenatal stress can cause an increase in seizure threshold and also impair offspring's development and their hippocampal structure.

**Keywords:** Hippocampus, Pregnancy, PTZ, Stress, Seizure Threshold

[*]**Corresponding Author: Kaka Gh,** Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
**Email:** gh_kaka@yahoo.com

**Please cite this article as follows:**
Kahali M, Oryan Sh, Sadraee SH, Kaka GH, Parsaee S, Mohseni Kouchesfehani H. The Impact of Stress during Pregnancy on Children's' SeizureT and Developing Hippocampus in Mice Offsprings. Armaghane-danesh 2015; 20 (4): 333-345.

Archive of SID



www.SID.ir