Archive of SID

[DOI: 10.29252/koomesh.23.1.166]

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 8:55 +0330 on Saturday January 16th 2021

کومش- جلد ۲۳، شماره ۱ (پیاپی ۸۱)، زمستان ۱۳۹۹

بررسی اثر استرس متغیردر دوران بارداری بر شرایط اکسیداتیو و متابولیسم گلوکز در موش‌های صحرایی نر بالغ

رویا رنجبر صابر [۱](M.Sc)، رکسانا کرباسچی [۲](Ph.D)، حمیرا زردوز [۱و۳*](Ph.D)

۱- مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱-۲۲۴۳۹۹۷۱ homeira_zardooz@sbmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۸

چکیده

هدف: بروز اختلالات متابولیک به وسیله تجربیات استرس‌زای منفی در مراحل ابتدای زندگی تحت تاثیر قرار می‌گیرند. از این‌رو در این مطالعه اثر استرس دوران بارداری بر شرایط اکسیداتیو و هومئوستاز گلوکز در زاده‌های بالغ نر موش‌های صحرایی نژاد ویستار بررسی شد.

مواد و روش‌ها: موش‌های ماده (۳۰±۲۰۰ گرم)، پس از بارداری، به ۲ گروه (۶ سر در هر گروه) بدون استرس و با استرس تقسیم شدند. حیوانات گروه استرس از روز چهاردهم تا انتهای بارداری استرس متغیر (Variable) دریافت کردند. بعد از پایان استرس (روز ۲۲ بارداری) از دم موش‌های مادر خونگیری و غلظت پلاسمایی کورتیکوسترون تعیین شد. از زاده‌های نر هر گروه (۶ سر در هر گروه) در ۴۵ روزگی خونگیری به منظور اندازه‌گیری غلظت‌های پلاسمایی کورتیکوسترون، مالون دی‌آلدهید (Malondialdehyde, MDA)، گلوکز و انسولین انجام شد، هم‌چنین شاخص HOMA-IR (شاخص مقاومت به انسولین) محاسبه شد.

یافته‌ها: استرس دوران بارداری غلظت پلاسمایی کورتیکوسترون را در مادر و زاده‌های بالغ این مادران افزایش داد. هم‌چنین غلظت پلاسمایی MDA این زاده‌ها افزایش یافت، ،در حالی‌که بدون تغییر در غلظت گلوکز پلاسما، کاهش غلظت پلاسمایی انسولین، شاخص HOMA-IR، میزان مصرف غذا و وزن بدن در زاده‌های مذکور مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: استرس دوران بارداری موجب افزایش غلظت کورتیکوسترون پلاسما و القا استرس اکسیداتیو و به دنبال آن کاهش غلظت انسولین پلاسما در زاده‌های نر بالغ شد. این احتمال وجود دارد که افزایش غلظت پلاسمایی کورتیکوسترون مادر از طریق ایجاد تغییر در سیستم‌های نوروآندوکرین، اکسیداتیو و متابولیک جنین عامل ایجاد این اختلالات باشد.

واژه‌های کلیدی: استرس دوران بارداری، کورتیکوسترون، استرس اکسیداتیو، مقاومت به انسولین

مقدمه

استرس دوران بارداری با ایجاد محیط داخل رحمی غیر طبیعی می‌تواند موجب ایجاد تغییراتی در متابولیسم جنین در حال رشد و عواقب زیان بار ماندگار در دوره‌های بعدی زندگی او شود [۱-۴]. در واقع منشاء این تغییرات مواجهه‌ی داخل رحمی جنین با گلوکوکورتیکوئیدها و/یا سیتوکین‌های التهابی می‌باشد که می‌تواند در طی استرس مزمن مادر افزایش یابد و از طریق جفت به جنین منتقل شود [۵-۷]. در این راستا مطالعات متعدد انسانی [۸-۱۲] و حیوانی [۱۳،۱۴] افزایش ریسک اختلال در هومئوستاز گلوکز را به دنبال استرس دوران بارداری و اختلال متعاقب در پاسخ محور هیپوتالاموسی-هیپوفیزی-آدرنال (Hypothalamic-Pituitary - Adrenal Axis, HPA) در زاده‌های بالغ نشان داده‌اند. از سوی دیگر محققان نشان داده‌اند که مواجهه با استرس تولید (Reactive Oxygen Species) ROS را افزایش داده و موجب القاء استرس اکسیداتیو (عدم تعادل بین عوامل اکسیدان و آنتی‌اکسیدان) می‌شودROS از طریق پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء به سلول‌ها آسیب می‌رساند [۱۵،۱۶]. هم‌چنین، مطالعات حیوانی نشان داده‌اند که افزایش غلظت گلوکوکورتیکوئیدها با افزایشROS و آسیب اکسیداتیو به ارگان‌های مختلف همراه است [۱۷،۱۸]. استرس دوران بارداری نیز قادر به القاء استرس اکسیداتیو و آسیب‌های اکسیداتیو به ارگان‌های مختلف بوده و

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/koomesh.23.1.166]
Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 8:55 +0330 on Saturday January 16th 2021

زمینه‌ساز بروز بیماری‌های مختلف در بزرگسالی می‌گردد [۱۹-۲۳]. کاهش رشد داخل رحمی (Intrauterine IUGR) Growth Restriction، که با کاربرد گلوکوکورتیکوئیدها در گونه‌های مختلف حیوانی در دوران بارداری نیز قابل القاء می‌باشد [۷،۲۴،۲۵]، با وزن کم تولد، افزایش شاخص‌های اکسیدان و آنتی‌اکسیدان و اختلال حساسیت به انسولین در زاده‌ها همراه است [۲۶،۲۷]. سلول‌های بتای پانکراس زاده‌های موش‌های صحرایی با رشد محدود داخل رحمی نیز افزایش ROSو اختلال در تولید ATP را نشان دادند [۲۸]. از آن‌جائی‌که جزایر پانکراس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پایینی دارند، وقوع یک استرس اکسیداتیو سیستمیک می‌تواند موجب آسیب اکسیداتیو به سلول‌های بتای پانکراس، اختلال ترشح انسولین و در نتیجه اختلال هومئوستاز گلوکز شود [۲۹].

با توجه به این‌که استرس روانی مزمن در جوامع امروزی بسیار شایع است [۳۰]، هم‌چنین از آن‌جائی‌که مطالعات قبلی از یک سو، در مدل‌های حیوانی، نتایج متفاوتی از نظر تغییرات غلظت گلوکوکورتیکوئیدها [۳۰-۳۳] به دنبال کاربرد استرسور روانی ثبت کرده‌اند، و از سوی دیگر اطلاعات متناقضی در مورد اثر استرس پری‌ناتال بر متابولیسم گلوکز نشان داده‌اند، در مطالعه حاضر به بررسی اثر استرس متغیر (Variable stress) مزمن در دوران بارداری (که شامل استرسورهای روانی متفاوت می‌باشد)، بر احتمال بروز استرس اکسیداتیو و تغییر هومئوستاز گلوکز در زاده‌های نر بالغ موش صحرایی پرداختیم. لازم به توضیح است که این روش القاء استرس مزمن روانی با کم‌ترین میزان تطابق همراه بوده [۳۴] و مطالعات نشان داده‌اند که سطح کورتیکوسترون پلاسما در حیوانات تحت این مدل استرس‌دهی همواره افزایش می‌یابد [۳۵]. بنابراین اعمال این نوع استرس در دوره بارداری موجب می‌شود جنین در دوه بحرانی تکاملش با غلظت‌های بالای کورتیکوسترون مادر مواجه شود. در این مطالعه غلظت‌های پلاسمایی کورتیکوسترون، گلوکز، انسولین و مالون دی‌آلدهید (Malondialdehyde) (شاخص استرس اکسیداتیو) و شاخص HOMA-IR (Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance) (شاخص مقاومت به انسولین) در زاده‌های بالغ تعیین شد.

مواد و روش‌ها

طراحی مطالعه

مطالعه حاضر با مجوز کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (IR.SBMU.MSP.REC.1397.156) با رعایت استانداردهای مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. در این مطالعه‌ی تجربی موش‌های صحرایی ماده ۳۰±۲۰۰ گرم و نر ۵۰±۲۵۰ گرم، نژاد ویستار، از حیوان‌خانه‌ی مرکز تحقیقات علوم اعصاب خریداری شد و به منظور جفت‌گیری یک سر موش بالغ نر با دو سر موش ماده‌ی باکره (که استرس بارداری و زایمان را تجربه نکرده است) در یک قفس قرار داده شدند و بیست و چهار ساعت بعد حیوان نر جدا و پس از حصول اطمینان از بارداری (با دیدن اسپرم در اسمیر واژینال) روز صفر بارداری تعیین شد. حیوانات باردار به صورت تصادفی ساده و بدون جایگزینی در ۲ گروه (۶ سر حیوان در هر گروه) بر اساس دریافت استرس و عدم دریافت استرس قرار داده شدند. حیوانات گروه‌های استرس از روز چهاردهم بارداری تا روز بیست و یکم (روز آخر بارداری) استرس variable (که استرسی غیرقابل پیش‌بینی بوده و کم‌ترین تطابق حیوان را با استرس ایجاد می‌کند) دریافت کردند [۳۶-۳۸]. زاده‌های زایمان‌های مختلف از هر گروه از مادران نیز به طور تصادفی در دو گروه استرس (STR) و بدون استرس (CNTL) قرار داده شدند (۶ سر حیوان در هر گروه). زاده‌های هیچ‌یک از گروه‌ها از زمان تولد تا پایان آزمایش (۴۵ روزگی) مداخله‌ای نداشتند و در پایان شیرخوارگی تا ۴۵ روزگی در قفس‌های جداگانه به تعداد ۳ سر حیوان در هر قفس نگه‌داری شدند.

خون‌گیری از دم مادران در روز ۲۲ بارداری پس از اتمام دوره استرس به منظور تعیین غلظت کورتیکوسترون پلاسما انجام شد. در زاده‌های نر در زمان بلوغ (۴۵ روزگی) خون‌گیری از دم به منظور اندازه‌گیری غلظت‌های پلاسمایی کورتیکوسترون، گلوکز و انسولین و مالون دی‌آلدئید (MDA) انجام شد. هم‌چنین وزن بدن زاده‌ها و میزان مصرف غذای آنان (از طریق تفاضل وزن غذای باقی‌مانده، پس از ۲۴ ساعت، از وزن غذای در اختیار گذاشته شده) در ۴۵ روزگی با استفاده از ترازوی دیجیتال (شرکت FWE، ژاپن، حساسیت ۱ گرم) اندازه‌گیری شد.

استرسورها و روش القای استرس

در این مطالعه جهت القای استرس از استرس variable، طبق جدول ۱، استفاده شد. استرسورها شامل موارد زیر بود:

استرس محدودکننده: حیوانات در یک restrainer پلکسی‌گلس به ابعاد ۸×۸×۱۱ سانتی‌متر محدود شدند.

استرس شنا: حیوانات در یک استوانه‌ی پلکسی‌گلس به ارتفاع ۴۶ سانتی‌متر و قطر ۲۰ سانتی‌متر که تا ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر از آب با دمای متوسط ۱±۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد پر می‌شد قرار داده شدند.

استرس isolation: حیوانات به‌طور انفرادی در یک قفس قرار داده شده و در یک اتاق جداگانه نگهداری شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/koomesh.23.1.166]
Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 8:55 +0330 on Saturday January 16th 2021

استرس قرارگیری در قفس شلوغ: پنج rat در یک قفس کوچک قرار گرفتند.

استرس wet bedding: حیوانات در یک قفس که کف آن ۲۰۰ میلی‌لیتر آب ریخته شده بود قرار داده شدند.

جدول ۱. پروتکل استرس

روز بارداری	صبح	ظهر	بعد از ظهر
۱۴	استرس محدود کننده (یک ساعت)	استرس شنا در دمای اتاق (پانزده دقیقه)	استرس محدود کننده (یک ساعت)
۱۵		نگهداری حیوان در قفسی که کف آن ۲۰۰ سی سی آب ریخته شده است (۴ ساعت)	
۱۶	استرس شنا در دمای اتاق (پانزده دقیقه)	استرس محدود کننده (یک ساعت)	استرس شنا در دمای اتاق (پانزده دقیقه)
۱۷		استرس شنا در دمای اتاق (پانزده دقیقه)	استرس isolation (دوازده ساعت)
۱۸	انتقال به قفس شلوغ (دوازده ساعت)		
۱۹	استرس محدود کننده (یک ساعت)	استرس شنا در دمای اتاق (پانزده دقیقه)	استرس محدود کننده (یک ساعت)
۲۰		نگهداری حیوان در قفسی که کف آن ۲۰۰ سی سی آب ریخته شده است (۴ ساعت)	
۲۱	استرس شنا در دمای اتاق (پانزده دقیقه)	استرس محدود کننده (یک ساعت)	استرس شنا در دمای اتاق (پانزده دقیقه)

روش خون‌گیری و اندازه‌گیری فاکتورهای پلاسمایی

خون‌گیری از حیوانات ناشتا (۱۶ ساعت)، در ساعت ۸/۳۰–۸ صبح، از طریق بریدن انتهای دم با تیغ بیستوری انجام شد. ماده بی‌هوشی مورد استفاده، پنتوباربیتال (Sigma, USA) بود که در حلال سالین حل شده و به صورت داخل صفاقی (۵۰mg/kg) تزریق می‌شد. پس از بی‌هوشی و فقدان righting reflex ابتدا دم حیوان در محفظه حاوی آب گرم ۴۰ درجه قرار گرفته و پس از ۳ الی ۴ دقیقه دم از آب خارج و خشک شد. سپس با تیغ بیستوری انتهای دم بریده شده و خون‌گیری انجام شد. خون در لوله‌های اپندورف حاوی هپارین (۵۰۰۰IU/ml) به میزان ۱۰ میکرولیتر به ازای هر میلی‌لیتر خون، جمع‌آوری شد [۳۹]. پس از این‌که لوله‌های حاوی خون ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ شدند، پلاسما جدا شده و برای اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر در دمای ۸۰– درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. گلوکز پلاسما با روش گلوکز اکسیداز (شرکت پارس‌آزمون، ایران)، انسولین با استفاده از کیت الایزای انسولین Rat (شرکت Mercodia، سوئد)، کورتیکوسترون با استفاده از کیت الایزای کورتیکوسترون (شرکت zellbio، آلمان)، MDA با استفاده از کیت کالری متریک (شرکت zellbio، آلمان) اندازه‌گیری شدند.

محاسبه شاخص HOMA-IR

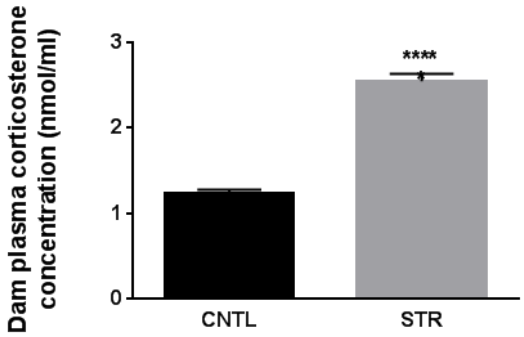
جهت ارزیابی کمی میزان مقاومت به انسولین (HOMA-IR) از غلظت‌های پلاسمایی ناشتای گلوکز (mM) و انسولین (µU/ml) طبق فرمول مقابل استفاده شد: ۲۲/۵/ (غلظت پلاسمایی انسولین× غلظت پلاسمایی گلوکز) [۳۹،۴۰].

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تایید نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون K-S استفاده شد. به منظور آنالیز نتایج از نرم‌افزار آماری SPSS 21 و GraphPad Prism 6 استفاده شد. اطلاعات به‌صورت میانگین±انحراف معیار استاندارد بیان شد. جهت مقایسه غلظت‌های پلاسمایی پارامترها بین مادران یا زاده‌های گروه استرس و کنترل از آزمون آماری unpaired t-test استفاده شد. در تمامی موارد P<۰/۰۵ مرز معنی‌دار بودن اختلافات در نظر گرفته شد.

نتایج

بررسی اثر استرس متغیر در دوران بارداری بر غلظت پلاسمایی کورتیکوسترون مادران. غلظت پلاسمایی کورتیکوسترون مادران در گروه استرس در مقایسه با گروه



کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۰۰۱) (شکل ۱).

شکل ۱. اثر استرس متغیر در دوران بارداری بر غلظت پلاسمایی کورتیکوسترون در مادران باردار. هر ستون بیانگر Mean±SEM برای ۶ سر حیوان می باشد. * اختلاف معنی‌دار با گروه CNTL، CNTL: کنترل، STR: استرس

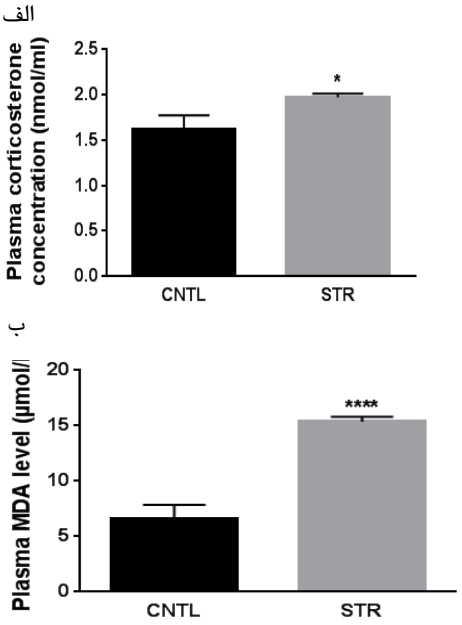
بررسی اثر استرس متغیر در دوران بارداری بر غلظت‌های پلاسمایی کورتیکوسترون و MDA در زاده‌های نر بالغ. زاده‌های مادرانی که در دوران بارداری استرس دریافت کرده بودند افزایش معنی‌دار غلظت‌های پلاسمایی کورتیکوسترون

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/koomesh.23.1.166]
Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 8:55 +0330 on Saturday January 16th 2021

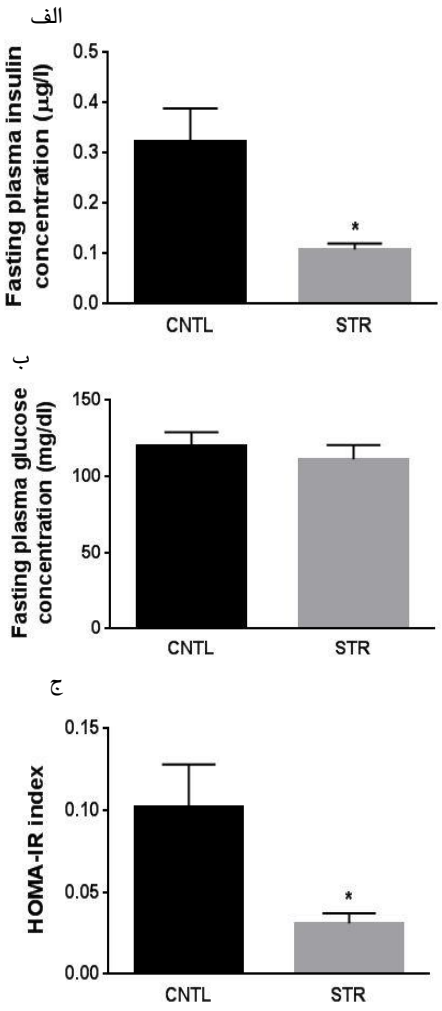
(P<۰/۰۵) و MDA (P<۰/۰۰۰۱) را در مقایسه با زاده‌های گروه کنترل نشان دادند (شکل‌های ۲-الف و ۲-ب).



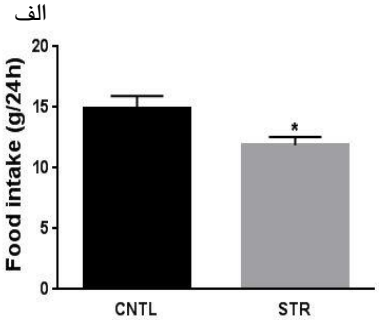
شکل ۲. اثر استرس متغیر در دوران بارداری بر غلظت های پلاسمایی (الف) کورتیکوسترون و (ب) MDA در زاده های نر بالغ. هر ستون بیان‌گر Mean±SEM برای ۶ سر حیوان می‌باشد. * اختلاف معنی‌دار با گروه CNTL، CNTL: کنترل، STR: استرس

بررسی اثر استرس متغیر در دوران بارداری بر غلظت‌های پلاسمایی گلوکز و انسولین و شاخص HOMA-IR در زاده‌های نر بالغ. استرس دوران بارداری موجب کاهش معنی‌دار غلظت پلاسمایی انسولین (P<۰/۰۵) در زاده‌های نر بالغ شد، در حالی‌که تغییر معنی‌داری در غلظت پلاسمایی گلوکز ایجاد نکرد (نمودارهای ۳-الف و ۳-ب). شاخص HOMA-IR در زاده‌های مادران دریافت‌کننده استرس نسبت به زاده‌های کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵) (شکل ۳-ج).

بررسی اثر استرس متغیر در دوران بارداری بر میزان مصرف غذا و وزن بدن زاده‌های نر بالغ. اعمال استرس در هفته آخر بارداری موجب کاهش میزان مصرف غذا و وزن بدن زاده‌های نر بالغ در روز ۴۵ آزمایش در مقایسه با زاده‌های گروه کنترل شد (P<۰/۰۵) (شکل های ۴-الف و ۴-ب).



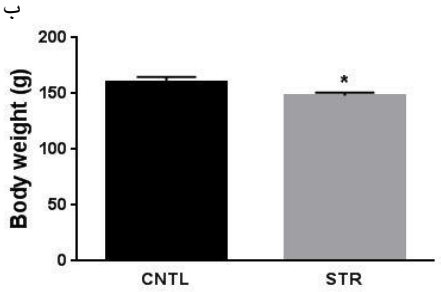
شکل ۳. اثر استرس متغیر در دوران بارداری بر غلظت های پلاسمایی (الف) انسولین و (ب) گلوکز و (ج) شاخص HOMA-IR در زاده‌های نر بالغ. هر ستون بیان‌گر Mean±SEM برای ۶ سر حیوان می‌باشد. * اختلاف معنی‌دار با گروه CNTL، CNTL: کنترل، STR: استرس



www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/koomesh.23.1.166]
Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 8:55 +0330 on Saturday January 16th 2021



شکل ۴. اثر استرس متغیر در دوران بارداری بر (الف) میزان مصرف غذا و (ب) وزن بدن در زاده‌های نر بالغ. هر ستون بیان‌گر Mean±SEM برای ۶ سر حیوان می‌باشد. * اختلاف معنی‌دار با گروه CNTL، CNTL: کنترل، STR: استرس

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استرس دوران بارداری موجب افزایش غلظت‌های پلاسمایی کورتیکوسترون و MDA پلاسما در زاده‌های بالغ می‌شود. از سوی دیگر در این زاده‌ها غلظت انسولین ناشتای پلاسما کاهش یافت در حالی‌که غلظت گلوکز ناشتا تغییر معنی‌داری نشان نداد. محاسبه شاخص HOMA-IR کاهش معنی‌دار این شاخص را در زاده‌های بالغ گروه استرس نشان داد. میزان مصرف غذا و وزن بدن نیز در این زاده‌ها نسبت به زاده‌های کنترل کم‌تر بود.

مطالعات متعدد افزایش غلظت پلاسمایی کورتیکوسترون را به دنبال اعمال استرس متغیر در موش‌های صحرایی باردار و غیر باردار نشان داده‌اند [۳۵]. بنابراین اعمال این نوع استرس در دوره بارداری موجب می‌شود که جنین در دوه بحرانی تکاملش با غلظت‌های بالای کورتیکوسترون مادر مواجه شود که می‌تواند منشا تغییرات بعدی در محور HPA او باشد. در این راستا، تحقیقات بسیاری اثر استرس دوره پری‌ناتال را بر برنامه‌ریزی و فعالیت محور HPA و غلظت پایه و تحریک شده‌ی کوتیکوسترون پلاسما در زاده‌های بالغ مورد بررسی قرار داده‌اند. هم‌خوان با مطالعه حاضر، در مطالعه‌ای روی میمون‌های رزوس نوجوان، استرس پری‌ناتال سطح کورتیزول پایه را افزایش و مهار آزاد شدن کورتیزول به دنبال درمان با دگزامتازون را کاهش داد [۴۱]. هم‌چنین استرس پری‌ناتال در اواخر بارداری (روز ۵۰ یا ۶۰ بارداری) در خوکچه هندی بالغ نر موجب افزایش سطح پایه و تحریک شده با ACTH کورتیزول در جنس نر شد، در حالی‌که در جنس ماده فقط سطح پایه کورتیزول را افزایش داد [۴۲]. در موش‌های صحرایی نیز استرس پری‌ناتال در هفته آخر بارداری منجر به افزایش سطح پایه و تحریک شده‌ی کورتیکوسترون در زاده‌های بالغ شد [۴۳]. با این وجود مطالعات متعددی عدم تغییر غلظت پایه کورتیکوسترون را در زاده‌های بالغ موش‌های صحرایی نشان دادند [۴،۴۴]. احتمالاً تفاوت در پاسخ‌ها به دلیل تفاوت در نوع استرس، مدت زمان آن و زمان مواجهه با استرس دوران بارداری یا پس از تولد و هم‌چنین زمان بررسی و جنسیت زاده‌های مورد بررسی است [۴]. در این مطالعه افزایش غلظت پلاسمایی MDA در زاده‌های بالغ گروه STR نشان‌دهنده وجود استرس اکسیداتیو در حیوانات این گروه است. مطالعات نشان داده‌اند که مواجهه جنینی با کورتیکوسترون افزایش یافته مادر می‌تواند در تغییر برنامه‌ریزی سیستم‌های اکسیداتیو و التهابی در این زاده‌ها نقش داشته باشد. در این رابطه IUGR، که می‌تواند به‌وسیله مواجهه با مقادیر بالای کورتیکوسترون مادر ایجاد شود [۷،۲۴،۲۵]، در بروز اکسیداتیو استرس داخل رحمی و تغییرات اپی‌ژنتیکی سیستم اکسیدانی – آنتی‌اکسیدانی جنین نقش دارد [۴۴]. در این رابطه شرایط متابولیک مادر نیز می‌تواند تعیین‌کننده باشد. به عنوان مثال افزایش غلظت پلاسمایی گلوکز مادر می‌تواند یک محیط داخل رحمی هیپرگلیسمیک را ایجاد کرده و در برنامه‌ریزی سیستم‌های اکسیداتیو و متابولیک جنین مانند تحمل گلوکز یا حساسیت به انسولین اثر بگذارد [۴۵،۴۶]. عدم بررسی شرایط متابولیک مادر در این مطالعه یکی از محدودیت‌های آن می‌باشد و در مطالعات تکمیلی بعدی در نظر گرفته می‌شود. در مطالعه حاضر انسولین ناشتای پلاسما در گروه STR کاهش معنی‌داری نشان داد که می‌تواند ناشی از غلظت بالای کورتیکوسترون و/یا القاءاکسیداتیو استرس باشد. مطالعات نشان داده‌اند که از یک سو مواجهه جنینی با کورتیکوسترون از طریق تغییر بیان فاکتورهای نسخه‌برداری (نظیر PDX1) بر تکامل و تمایز سلول‌های بتای پانکراس اثر منفی می‌گذارد و از سوی دیگر کورتیکوسترون می‌تواند از طریق اتصال به گیرنده‌هایش در سلول‌های بتا از مسیرهای مختلف موجب کاهش ترشح انسولین از سلول‌های بتا شود [۴۷،۴۸]. هم‌چنین اکسیداتیو استرس می‌تواند موجب کاهش ترشح انسولین از سلول‌های بتا شود [۴۹]. اما در گروه STR غلظت ناشتای گلوکز پلاسما بین دو گروه استرس و کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت، و کاهش شاخص HOMA-IR نیز در این گروه مشاهده شد. شاخص HOMA-IR نشان‌دهنده میزان مقاومت به انسولین در کبد است بنابراین کاهش این شاخص نشانه آن است که کبد می‌تواند در غلظت‌های پایین انسولین گلوکز را برداشت و متابولیزه کند [۵۰]. از سوی دیگر افزایش غلظت پلاسمایی کورتیکوسترون، گلوکونئوژنز کبدی را افزایش داده و می‌تواند موجب افزایش غلظت پلاسمایی گلوکز شود [۵۱]. در نتیجه احتمالاً اثرات متضاد این دو عامل مانع از

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/koomesh.23.1.166]
Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 8:55 +0330 on Saturday January 16th 2021

تغییر غلظت پلاسمایی گلوکز ناشتا در زاده‌های گروه STR شده است. از سوی دیگر مصرف کم‌تر غذا به همراه وزن پایین‌تر در حیوانات گروه STR در مقایسه با حیوانات گروه کنترل می‌تواند در حساسیت بالاتر به انسولین در حیوانات گروه استرس دخالت داشته باشد [۵۲،۵۳]. در اکثر مطالعات استرس پری‌ناتال بر غلظت ناشتای انسولین و گلوکز زاده‌ها اثری نداشته است [۵۴]. هر چند استرس پری‌ناتال در جنین‌هایی که در هنگام تولد قرار داشتند، غلظت گلوکز را کاهش داد [۱]، در حالی‌که غلظت انسولین پلاسما تغییر معنی‌داری نشان نداد. این یافته احتمالاً افزایش حساسیت به انسولین را در این حیوانات نشان می‌دهد [۱]. هم‌چنین هم‌سو با مطالعه حاضر، استرس روانی مزمن پری‌ناتال موجب کاهش انسولین پلاسما و کاهش شاخص HOMA-IR در زاده‌های ماده‌ی موش‌های صحرایی در سن ۱۰ هفتگی شد [۵۵]. این افزایش حساسیت به انسولین به تغییر برنامه‌ریزی پردازش گلوکز در بافت‌های حساس به انسولین در دوره جنینی نسبت داده می‌شود [۵۶،۵۷]، هر چند امکان تداوم آن با افزایش سن مورد سوال است [۵۸-۶۱]. از این‌رو پیشنهاد می‌شود مطالعه حاضر در زاده‌های با سنین بالاتر نیز انجام شود. هم‌چنین تغییرات در برنامه‌ریزی سیستم‌های مختلف از جمله سیستم نوروآندوکرین و سیستم‌های مرتبط با تنظیم هومئوستاز گلوکز اغلب با تغییرات اپی‌ژنتیکی از جمله متیلاسیون DNA ژن‌هایی مثل رسپتور گلوکوکورتیکوئیدی، ترانسپورترهای گلوکز و گلوکوکیناز همراه است [۱،۶۲،۶۳]. در این رابطه گلوکوکورتیکوئیدها می‌توانند با تاثیر بر تکامل بافت‌های دخیل در تنظیم متابولیسم گلوکز به عنوان یک میانجی بین رشد کم جنین و برنامه‌ریزی تکاملی متابولیسم گلوکز مطرح باشند [۵۸]، بنابراین پیشنهاد می‌شود که در مطالعات تکمیلی بررسی‌های اپی‌ژنتیکی نیز صورت گیرد. برخلاف مطالعه حاضر مطالعات متعددی افزایش شاخص HOMA-IR را در زاده‌هایی که استرس پری‌ناتال را تجربه کرده‌اند، گزارش نموده‌اند. در این راستا، در یک مطالعه انسانی استرس روانی پری‌ناتال در دوران بارداری موجب افزایش این شاخص در فرزندان جوان شد [۱۲]. هم‌چنین مواجهه موش‌های صحرایی باردار با لیپوپلی‌ساکارید (استرسور بیولوژیک) شاخص HOMA-IR را در زاده‌ها در سن بزرگسالی (۳ ماهگی) افزایش داد [۶۴]. لازم به توضیح است که محققان معتقدند به دلیل استاندارد نبودن مداخلات و تفاوت در طراحی آزمایشات، به‌دست آمدن نتایج متفاوت امری اجتناب‌ناپذیر است [۵۴]. علاوه بر تفاوت در نوع استرس اعمال شده، اختلاف در زمان مواجهه حیوان با استرس نیز امر مهمی است که باید در بیان علت اختلافات دیده شده در این تحقیق با تحقیقات قبلی مد نظر قرار گیرد [۵۴].

به طور خلاصه، از نتایج این مطالعه چنین استنباط می‌شود که استرس دوران بارداری احتمالاً با افزایش غلظت پلاسمایی هورمون‌های استرسی مادر و تغییر محیط داخل رحمی، برنامه‌ریزی سیستم‌های نوروآندوکرین، اکسیداتیو و متابولیک جنین در حال تکامل را تغییر داده و از این طریق موجب بروز اثرات نامطلوب پایدار (افزایش غلظت کورتیکوسترون پلاسما و ایجاد استرس اکسیداتیو) در زاده‌های نر بالغ شده و غلظت پلاسمائی انسولین را در این زاده‌ها کاهش داده است، که به نوبه خود می‌تواند زمینه‌ساز بروز عدم تحمل گلوکز در دوره‌های بعدی زندگی شود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه خانم رویا رنجبر صابر به شماره ثبت ۳۷ در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی است. از مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی که حمایت مالی این تحقیق را به عهده داشتند تشکر به عمل می‌آید.

منابع

[1] Lesage J, Del-Favero F, Leonhardt M, Louvart H, Maccari S, Vieau D, et al. Prenatal stress induces intrauterine growth restriction and programmes glucose intolerance and feeding behaviour disturbances in the aged rat. J Endocrinology 2004; 181: 291-296.

[2] Maccari S, Darnaudery M, Morley-Fletcher S, Zuena A, Cinque C, Van Reeth O. Prenatal stress and long-term consequences: implications of glucocorticoid hormones. Neurosci Biobehav Rev 2003; 27: 119-127.

[3] Owen D, Andrews MH, Matthews SG. RETRACTED: Maternal adversity, glucocorticoids and programming of neuroendocrine function and behaviour. Neurosci Biobehav Rev 2005; 29: 209-226.

[4] Weinstock M. The potential influence of maternal stress hormones on development and mental health of the offspring. Brain Behav Immun 2005; 19: 296-308.

[5] Holemans K, Aerts L, Assche Fv. Lifetime consequences of abnormal fetal pancreatic development. J Physiol 2003; 547: 11-20.

[6] Mairesse J, Lesage J, Breton C, Bréant B, Hahn T, Darnaudéry M, et al. Maternal stress alters endocrine function of the feto-placental unit in rats. Am J Physiol Endoc Metab 2007; 292: E1526-E133.

[7] Ingvorsen C, Brix S, Ozanne S, Hellgren L. The effect of maternal inflammation on foetal programming of metabolic disease. Acta Physiol 2015; 214: 440-449.

[8] Cleasby ME, Livingstone DE, Nyirenda MJ, Seckl JR, Walker BR. Is programming of glucocorticoid receptor expression by prenatal dexamethasone in the rat secondary to metabolic derangement in adulthood? Eur J Endoc 2003; 148: 129-138.

[9] Lindsay R, Lindsay R, Waddell B, Seckl J. Prenatal glucocorticoid exposure leads to offspring hyperglycaemia in the rat: studies with the 11 b-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor carbenoxolone. Diabetologia 1996; 39: 1299-1305.

[10] Moss TJ, Sloboda DM, Gurrin LC, Harding R, Challis JR, Newnham JP. Programming effects in sheep of prenatal growth restriction and glucocorticoid exposure. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2001; 281: R960-R970.

[11] Cao-Lei L, Dancause KN, Elgbeili G, Laplante DP, Szyf M, King S. DNA methylation mediates the effect of maternal cognitive appraisal of a disaster in pregnancy on the child's C-peptide secretion in adolescence: Project Ice Storm. PloS One 2018; 13.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/koomesh.23.1.166]
Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 8:55 +0330 on Saturday January 16th 2021

[12] Entringer S, Wüst S, Kumsta R, Layes IM, Nelson EL, Hellhammer DH, et al. Prenatal psychosocial stress exposure is associated with insulin resistance in young adults. Am J Obstet Gynecol 2008; 199: 498. e1-e7.

[13] Maccari S, Piazza PV, Kabbaj M, Barbazanges A, Simon H, Le Moal M. Adoption reverses the long-term impairment in glucocorticoid feedback induced by prenatal stress. J Neuroscience 1995; 15: 110-116.

[14] WARD IL, WEISZ J. Differential effects of maternal stress on circulating levels of corticosterone, progesterone, and testosterone in male and female rat fetuses and their mothers*. Endocrinology 1984; 114: 1635-1644.

[15] Sadau Y, Adelaiye A, Magaji R, Ayo J, Mabrouk M, Isa A. Role of selenium and Vitamin E on gastric mucosal damage induced by water-immersion restraint stress in wistar rats.

[16] Kashif S, Zaidi R, Al-Qirim TM, Hoda N, Banu N. Modulation of restraint stress induced oxidative changes in rats by antioxidant vitamins. J Nutr Biochem 2003; 14: 633-636.

[17] Costantini D, Marasco V, Møller AP. A meta-analysis of glucocorticoids as modulators of oxidative stress in vertebrates. J Comp Physiol B 2011; 181: 447-456.

[18] Wilson CB, McLaughlin LD, Nair A, Ebenezer PJ, Dange R, Francis J. Inflammation and oxidative stress are elevated in the brain, blood, and adrenal glands during the progression of post-traumatic stress disorder in a predator exposure animal model. PloS One 2013; 8.

[19] Sameni HR, Kavakebian F, Amjad MH, Bandegi AR, Yousefi B, Taherian AA. Effects of hydroalcoholic extract of Propolis on oxidative stress indices of rat fetal brain induced by chronic prenatal stress. Koomesh 2014; 482-492. (Persian).

[20] Haussmann MF, Longenecker AS, Marchetto NM, Juliano SA, Bowden RM. Embryonic exposure to corticosterone modifies the juvenile stress response, oxidative stress and telomere length. Proc Biol Sci 2012; 279: 1447-1456.

[21] Song L, Zheng J, Li H, Jia N, Suo Z, Cai Q, et al. Prenatal stress causes oxidative damage to mitochondrial DNA in hippocampus of offspring rats. Neurochem Res 2009; 34: 739-745.

[22] Madhyastha S, Sahu SS, Rao G. Resveratrol for prenatal-stress-induced oxidative damage in growing brain and its consequences on survival of neurons. J Basic Clin Physiol Pharmacol 2014; 25: 63-72.

[23] Cao K, Zheng A, Xu J, Li H, Liu J, Peng Y, et al. AMPK activation prevents prenatal stress-induced cognitive impairment: Modulation of mitochondrial content and oxidative stress. Free Radical Biol Med 2014;75: 156-166.

[24] Gatford KL, Simmons RA. Prenatal programming of insulin secretion in intrauterine growth restriction. Clin Obstet Gynecol 2013; 56: 520.

[25] Pristov JB, Spasojevic I, Mikovic Ž, Mandic V, Cerovic N, Spasic M. Antioxidative defense enzymes in placenta protect placenta and fetus in inherited thrombophilia from hydrogen peroxide. Oxid Med Cell Longev 2009; 2: 14-18.

[26] Hracsko Z, Orvos H, Novak Z, Pal A, Varga IS. Evaluation of oxidative stress markers in neonates with intra-uterine growth retardation. Redox Report 2008; 13: 11-16.

[27] Chen L, Chen R, Wang H, Liang F. Mechanisms linking inflammation to insulin resistance. Int J Endoc 2015; 2015.

[28] Simmons RA, Suponitsky-Kroyter I, Selak MA. Progressive accumulation of mitochondrial DNA mutations and decline in mitochondrial function lead to β-cell failure. J Biol Chem 2005; 280: 28785-28791.

[29] Ihara Y, Yamada Y, Toyokuni S, Miyawaki K, Ban N, Adachi T, et al. Antioxidant α-tocopherol ameliorates glycemic control of GK rats, a model of type 2 diabetes. FEBS Lett 2000; 473: 24-26.

[30] Rostamkhani F, Zardooz H, Zahediasl S, Farrokhi B. Comparison of the effects of acute and chronic psychological stress on metabolic features in rats. J Zhejiang Univ Sci B. 2012; 13: 904-912. (Persian).

[31] Zardooz H, Asl SZ, Naseri MG. Effect of chronic psychological stress on insulin release from rat isolated pancreatic islets. Life Sci 2006; 79: 57-62.

[32] Jorgensen A, Maigaard K, Wörtwein G, Hageman I, Henriksen T, Weimann A, et al. Chronic restraint stress in rats causes sustained increase in urinary corticosterone excretion without affecting cerebral or systemic oxidatively generated DNA/RNA damage. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2013; 40: 30-37.

[33] Michel C, Duclos M, Cabanac M, Richard D. Chronic stress reduces body fat content in both obesity-prone and obesity-resistant strains of mice. Horm Behav 2005; 48: 172-179.

[34] Herman J. Neural control of chronic stress adaptation. Front Behav Neurosci 2013; 7: 61.

[35] Wilson CA, Vazdarjanova A, Terry AV, Jr. Exposure to variable prenatal stress in rats: effects on anxiety-related behaviors, innate and contextual fear, and fear extinction. Behav Brain Res 2013; 238: 279-288.

[36] Sahu SS, Madhyastha S, Rao GM. Neuroprotective effect of resveratrol against prenatal stress induced cognitive impairment and possible involvement of Na+, K+-ATPase activity. Pharmacol Biochem Behav 2013; 103: 520-525.

[37] Tamashiro KL, Terrillion CE, Hyun J, Koenig JI, Moran TH. Prenatal stress or high-fat diet increases susceptibility to diet-induced obesity in rat offspring. Diabetes 2009; 58: 1116-1125.

[38] Karagiannides I, Golovatscka V, Bakirtzi K, Sideri A, Salas M, Stavrakis D, et al. Chronic unpredictable stress regulates visceral adipocyte-mediated glucose metabolism and inflammatory circuits in male rats. Physiol Rep 2014; 2: e00284.

[39] Sadeghimahalli F, Karbaschi R, Zardooz H, Khodagholi F, Rostamkhani F. Effect of early life stress on pancreatic isolated islets' insulin secretion in young adult male rats subjected to chronic stress. Endocrine 2015; 48: 493-503.

[40] Maghami S, Sadeghimahalli F, Zardooz H. Effects of maternal separation stress on glucose homeostasis in pubertal male rats. Koomesh 2017; 19.

[41] Coe CL, Kramer M, Cz´eh B, Gould E, Reeves AJ, Kirschbaum C, Fuchs E. Prenatal stress diminishes neurogenesis in the dentate gyrus of juvenile rhesus monkeys. Biol Psychiatry 2003; 54: 1025-1034.

[42] Kapoor A, Matthews SG. Short periods of prenatal stress affect growth, behaviour and hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity in male guinea pig offspring. J Physiol 2005; 566: 967-977.

[43] McGowan PO, Matthews SG. Prenatal stress, glucocorticoids, and developmental programming of the stress response. Endocrinology 2018; 159: 69-82.

[44] Thompson LP, Al-Hasan Y. Impact of oxidative stress in fetal programming. J Pregnancy 2012; 2012.

[45] Luo ZC, Delvin E, Fraser WD, Audibert F, Deal CI, Julien P, et al. Maternal glucose tolerance in pregnancy affects fetal insulin sensitivity. Diabet Care 2010; 33: 2055-2061.

[46] Fetita LS, Sobngwi E, Serradas P, Calvo F, Gautier JF. Consequences of fetal exposure to maternal diabetes in offspring. J Clin Endoc Metab 2006; 91: 3718.

[47] Portha B, Chavey A, Movassat J. Early-life origins of type 2 diabetes: fetal programming of the beta-cell mass. Exp Diabetes Res 2011; 2011: 05076.

[48] Beaudry JL, Riddell MC. Effects of glucocorticoids and exercise on pancreatic β-cell function and diabetes development. Diabetes Metab Res Rev 2012; 28: 560-573.

[49] Gatford KL, Simmons RA. Prenatal programming of insulin secretion in intrauterine growth restriction. Clin Obstet Gynecol 2013; 56: 520.

[50] Sadeghimahalli F, Karbaschi R, Salimi M, Khodagholi F, Zardooz H. Pancreatic HB9 protein level is affected by early life stress in young adult rats: possible involvement of TNF-α and corticosterone. Arch Physiol Biochem 2019; 1-8.

[51] Nirupama R, Rajaraman B, Yajurvedi H. Stress and Glucose metabolism: A Review. Imaging J Clin Med Sci 2018; 5: 008-12.

[52] Schenk S, Harber MP, Shrivastava CR, Burant CF, Horowitz JF. Improved insulin sensitivity after weight loss and exercise training is mediated by a reduction in plasma fatty acid mobilization, not enhanced oxidative capacity. J Physiology 2009; 587: 4949-4961.

[53] Gower BA, Weinsier RL, Jordan JM, Hunter GR, Desmond R. Effects of weight loss on changes in insulin sensitivity and lipid concentrations in premenopausal African American and white women. Am J Clin Nutr 2002; 76: 923-927.

[54] Burgueño AL, Juarez YR, Genaro AM, Tellechea ML. Prenatal stress and later metabolic consequences: systematic review and meta-analysis in rodents. Psychoneuroendocrinology 2019; 104560.

[55] Paternain L, De La Garza A, Batlle M, Milagro F, Martinez JA, Campion J. Prenatal stress increases the obesogenic effects of a high-fat-sucrose diet in adult rats in a sex-specific manner. Stress 2013; 16: 220-232.

www.SID.ir

Archive of SID

basal insulin secretion in nondiabetic humans. J Clin Endoc Metab 1999; 84: 863-868.

[61] Karakelides H, Irving BA, Short KR, O'Brien P, Nair KS. Age, obesity, and sex effects on insulin sensitivity and skeletal muscle mitochondrial function. Diabetes 2010; 59: 89-97.

[62] Portha B, Chavey A, Movassat J. Early-life origins of type 2 diabetes: fetal programming of the beta-cell mass. Exp Diabetes Res 2011; 2011.

[63] Cederroth CR, Nef S. Fetal programming of adult glucose homeostasis in mice. PLoS One 2009; 4.

[64] Hao XQ, Du JX, Li Y, Li M, Zhang SY. Prenatal exposure to lipopolysaccharide combined with pre-and postnatal high-fat diet result in lowered blood pressure and insulin resistance in offspring rats. PLoS One 2014; 9.

[56] Zhu Z, Cao F, Li X. Epigenetic programming and fetal metabolic programming. Front Endocrinol 2019; 10: 764.

[57] Fernandez-Twinn DS, Hjort L, Novakovic B, Ozanne SE, Saffery R. Intrauterine programming of obesity and type 2 diabetes. Diabetologia 2019; 1-13.

[58] Franko K, Forhead A, Fowden A. Differential effects of prenatal stress and glucocorticoid administration on postnatal growth and glucose metabolism in rats. J Endocrinology 2010; 204: 319-329.

[59] Szoke E, Shrayyef MZ, Messing S, Woerle HJ, Van Haeften TW, Meyer C, et al. Effect of aging on glucose homeostasis: accelerated deterioration of β-cell function in individuals with impaired glucose tolerance. Diabetes Care 2008; 31: 539-543.

[60] Iozzo P, Beck-Nielsen H, Laakso M, Smith U, Yki-Järvinen H, Ferrannini E, et al. Independent influence of age on

[DOI: 10.29252/koomesh.23.1.166]
Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 8:55 +0330 on Saturday January 16th 2021

www.SID.ir

Archive of SID

Volume 23, Issue 1 (Winter 2021), 166-173

[DOI: 10.29252/koomesh.23.1.166]

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 8:55 +0330 on Saturday January 16th 2021

Effect of maternal variable stress on oxidative status and glucose metabolism in pubertal male rats

Roya ranjbar Saber (M.Sc)[1], Roxana Karbaschi (Ph.D)[2], Homeira Zardooz (Ph.D)[*1,3]
1- Neurophysiology Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Faculty of Nursing and Midwifery, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Dept. of Physiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* Corresponding author. +98 21-22439971 homeira_zardooz@sbmu.ac.ir Received: 26 Jan 2020; Accepted: 7 Jun 2020

Introduction*:* Metabolic disorders are affected by negative stress experiences in the early stages of life. Accordingly, in this study, the effects of stress during pregnancy on oxidative status and glucose homeostasis in pubertal male Wistar rats were investigated.

Materials and Methods*:* After pregnancy, female rats (200±30 g) were divided into 2 groups (6 rats per group) of stress and non-stress. Animals in the stress group received variable stress from the fourteenth day to the end of pregnancy. At the end of stress procedure (on the 22nd day of pregnancy), blood was taken from the tail of the dam and the plasma concentration of corticosterone was determined. Blood samples were also collected from male offspring of each group (6 rats per group), at 45 days of age, to measure plasma concentrations of corticosterone, malondialdehyde (MDA), glucose, and insulin, moreover HOMA-IR (an insulin resistance index) was calculated.

Results: Stress during pregnancy increased the plasma concentrations of corticosterone in the dam and the pubertal offspring of these dams. Moreover, in these offspring, the plasma concentration of MDA increased, while without observing any change in plasma glucose concentration, plasma insulin concentration, HOMA-IR index, and food intake and body weight decreased.

Conclusion: Our findings indicate that stress during pregnancy increased plasma corticosterone concentration and induced oxidative stress, which followed by decreased plasma insulin concentration in pubertal male offspring. Conspicuously, it is possible that the increase in plasma levels of corticosterone of dam, via changing the embryonic neuroendocrine, oxidative, and metabolic systems, induces these impairments.

Keywords*:* Pregnancy, Maternal stress, Corticosterone, Oxidative Stress. Insulin Resistance.

www.SID.ir