Archive of SID

مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۰، شماره۷، مهر ۱۳۹۴(شماره پی در پی۱۰۲)

اثرات حفاظتی آرژنین بر روی مغز جنین های مادران تحت استرس بی حرکتی

الهام عنانات [۱]، حمد الله دلاویز [۲*]، رضا محمودی [۲]، امرالله روزبهی [۲]، علی میرزایی [۳]، مهرزاد جعفری برمک [۲]، پرستو راد [۴]، مهسا ثروت خواه [۱]، فروغ مریدی‌کیا [۱]

[۱] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۲]مرکزتحقیقات سلولی وملکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۳]مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۴]دانشکده پرستاری مامایی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۵/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: آرژنین با تنظیم فعالییت های بیولوژیکی مغز نقش مهمی در کاهش استرس داد. امروزه استرس را بیماری قرن می‌دانند که مشکلات فراوانی را ایجاد کرده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات حمایتی آرژنین بر بافت مغز جنین‌های مادران تحت استرس بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۲۰ سر موش صحرایی باردار از نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند. گروه با و بدون استرس که از روز ۵ بارداری تا روز ۲۰ بارداری ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به روش داخل صفاقی آرژنین دریافت کردند. گروه کنترل(تحت استرس) و شاهد(بدون استرس) دو میلی‌لیتر نرمال سالین دریافت کردند. سپس در روز ۲۰ بارداری موش‌های با کتامین(۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش و پس از سزارین جنین‌ها خارج شده و وزن شدند. بیست و پنج مغز جنین از هر گروه برای انجام و ضخامت پیشین مغز، هیپوکامپ و حجم مغز و تعداد ۲۵ مغز دیگر برای اندازه‌گیری میزان نیتریک اکساید استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که میزان نیتریک اکساید در گروه تحت استرس با آرژنین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت($p<۰/۰۵$). میانگین ضخامت قشر پیشین مغز و تشکیلات هیپوکامپ در گروه تحت استرس در مقایسه با گروه بدون استرس کاهش نشان داد ولی معنی‌داری نبود($p>۰/۰۵$). میانگین وزن جنین‌ها وحجم مغز آنها در گروه تحت استرس در مقایسه با گروه بدون استرس کاهش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: آرژنین با کاهش میزان استرس اکسیداتیو در مادران باردار تحت استرس می‌تواند از تغییرات مغز جنین‌ها و وزن آنها جلوگیری کند.

واژه‌های کلیدی : استرس، مغز جنین، آرژنین، موش باردار، نیتریک اکساید

[*] **نویسنده مسئول : حمد الله دلاویز**، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکزتحقیقات سلولی وملکولی
Email: delavizhamdi83@gmail.com

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015

مقدمه

بهداشت روانی مادر در طول دوران بارداری بسیار حایز اهمیت بوده به طوری که استرس می‌تواند با بر هم زدن تعادل فیزیکی و روانی او را دچار تنش نماید(۱). استرس از طریق تحریک محور هیپوتالاموس هیپوفیز- آدرنال، زمینه ساز تغییر در عملکرد سیستم اتونومیک و ترشح هورمون‌هایی مانند آدرنوکورتیکو- تروپین ازغده هیپوفیز، کورتیزول و کاتکول آمین‌های از غده فوق کلیوی می‌شود. این تغییرات هورمونی ممکن است منجر به تغییرات رفتاری در موجود زنده شود(۵ـ۲). با بروز این وقایع و افزایش سطوح گلوکوکورتیکوئید مادری و پتانسیل انتقال این هورمون‌ها از سد خونی جفتی، امکان تولد زود هنگام جنین، کاهش وزن، تضعیف سیستم ایمنی، تغییر در ترشح نروترانسمیترهایی نظیر دوپامین، سروتونین، گابا و نوراپی نفرین، افزایش میزان بتاـ اندورفین و مت انکفالین از هیپوتالاموس می‌شود این روند باعث اختلال در رشد جنین می‌شود(۷ و۶). بررسی‌ها نشان داده‌اند که استرس باعث اختلال در تکامل سلول‌های هیپوکامپ، کاهش خارهای دندریتی قشر پروفرونتال شده و در نتیجه دچار نقایص یادگیری در بزرگسالی می‌شود. استرس حتی از طریق پدر نیز در طول اسپرماتوژنزیس بر روی الگوی متیلاسیون DNA در قسمت قشر پروفرونتال جنین تأثیر می‌گذارد(۸). استرس‌های فیزیکی و روانی مثل بی‌حرکتی، منجر به تولید رادیکال‌های آزاد به خصوص در مغز شده و باعث واکنش‌های اکسایش لیپیدی می‌شوند. از آنجایی که در مغز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان وجود ندارد(۱۲ـ۹)، وجود رادیکال‌هایی از جمله سوپراکسید، هیدروکسیل، نیتریک اکسید و لیپید پراکسیل می‌تواند برای مغز بسیار خطرناک باشد(۱۴و۱۳). امروزه برای درمان استرس از داروهایی مانند بنزودیازپین‌ها استفاده می‌شود، اثرگذاری این دارو شاهدی بر درگیری سیستم گابانرژیک می‌باشد و هم‌چنین احتمال درگیری سیستم‌های مرتبط با گلوتامات و کوله سیتوکینین نیز مطرح شده است(۱۵). هم‌چنین از گیاهان دارویی مانند گل ساعتی، سنبل‌الطیب، صمغ پسته با مکانیزم مشابه استفاده می‌شود(۱۷ـ۱۵)، اما با پی پردن به عوارض رادیکال‌های آزاد در سال‌های اخیر و نقش آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند آرژنین، می‌توان بافت‌های بدن را در برابر این ساختارها حمایت نمود(۱۸).

آرژنین پیش ساز نیتریک اکساید است و جزو اسید آمینه‌های ضروری برای دوران جنینی می‌باشد. کاهش میزان سرمی آرژنین در نوزادان نارس، با اختلالات روده‌ای و قلبی ــ عروقی همراه است(۱۹). در دو ماه آخر جنینی با افزایش فعالیت در پایرولین - ۵ - کربوکسیلات(p5c)، سلول‌های روده کوچک جنین قادر به تولید آرژنین می‌شوند. پس از جذب آن از طریق روده کوچک، متابولیسم آن در کبد انجام می‌پذیرد، در چرخه اوره در سلول‌های کبدی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015

اطراف پورتال به اوره و اورنیتین تبدیل شده و قسمت کوچکی از آن تبدیل به نیتریک اکساید می‌شود(۲۲ـ۲۰). نیتریک اکساید در روز ۱۰ جنینی و بعد از تولد بیان می‌شوند، ولی در روز ۱۷ جنینی نیز کاهشی در بیان آن وجود دارد(۲۳). نیتریک اکساید سنتتاز آنزیم تبدیل کننده آرژنین به نیتریک اکساید می‌باشد و برای تولید آن از مولکول اکسیژن، نیکوتین ـ آدنین دی نوکلئوتید فسفات و کوفاکتورهای دیگر استفاده می‌کند نیتریک اکساید سنتتاز دارای سه ایزوفرم اندوتلیال، نورال و ایندیوسیبل می‌باشد(۲۵ و ۲۴). ایزوفرم اندوتلیالی در سلول‌های اندوتلیال به صورت متصل به غشای پلاسمایی د یده می‌شود، عمل این آنز یم باعث گشادی عروق می‌شود(۲۷ و ۲۶). در سلول‌های عصبی و گلیال از طریق اثرات طولانی مدت بر سیستم اعصاب مرکزی، در تنظیم جریان خون عروق مغزی، حافظه و یادگیری دخالت دارد(۲۹ و ۲۸). نیتریک اکساید با گیرنده‌های NMDA (N-Methyl-D-aspartic Acid) واکنش داده و از ورود کلسیم بیش از حد به سیتوزول سلولی جلوگیری می‌کند(۳۰). با این حال خود مولکول نیتریک اکساید می‌تواند باعث افزایش ورود کلسیم شده که در نتیجه منجر به اثرات سمی بر روی سلول می‌شود(۳۱)، بنابراین نیتریک اکساید هم عوارض حمایتی و هم عوارض مخرب دارد.

هدف از این مطالعه بررسی اثرات حمایتی آرژنین در برابر عوارض استرس زا و هم‌چنین کاهش عوارض استرس بروی جنین‌های متولد شده بود.

روش بررسی

این یک مطالعه تجربی است و پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید. تعداد ۲۰ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰ـ۲۰۰ گرم خریداری و به مدت یک هفته برای تطابق با محیط، درحیوان خانه دانشکده علوم پزشکی یاسوج نگهداری شدند. جهت بارداری موش‌ها، یک جفت موش صحرایی نر و ماده در ساعت ۸ شب در کنار هم درقفس قرار گرفتند. صبح روز بعد با مشاهده پلاک واژینال روز صفر بارداری برای حیوان در نظرگرفته شد. سپس موش‌های باردار به چهار گروه تقسیم‌بندی شدند. به گروه کنترل و شاهد به ترتیب با و بدون استرس دو میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک به صورت داخل صفاقی تزریق شد. گروه‌های درمانی با و بدون استرس آرژنین را به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم را بر کیلوگرم وزن بدن را از روز پنجم بارداری تا روز بیستم روزانه به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

برای ایجاد استرس یک جعبه مستطیلی شکل با چهار صفحه به پهنای ۷ سانتی‌متر و ارتفاع ۵/۵ سانتی‌متر و چهار منفذ در سطح و کف محفظه تعبیه شد(شکل ۱). حیوانات از طریق این منافذ اکسیژن و آب دریافت می‌کردند، هم‌چنین یک ساعت زنگ‌دار بالای جعبه قرار گرفت. حیوانات به مدت ۶ ساعت در جعبه قرار گرفتند و هم‌چنین هر دو ساعت یکبار ساعت زنگ‌دار برای ایجاد سر و صدا تنظیم شد. (تصویر ۱ تصویر جعبه استرس تهیه شده را نشان

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015

می‌دهد، ۵ ساعت پس از آخرین تزریق، در روز ۲۰ بارداری مادران به وسیله کتامین(۱۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم) عمیقاً بیهوش و سزارین شدند، جنین‌ها خارج و سپس با ترازوی آزمایشگاهی دیجیتالی(با تخمین۰/۰۲) وزن شدند، جمجمه جنین‌ها تشریح شد و مغز آنها خارج گردید.

برای اندازه‌گیری نیتریک اکساید ۵ مغز از جنین‌های هر مادر در جمع ۲۵ عدد مغز در نظر گرفته شد که مغزها به درون بافر فسفات(۰/۱ مولار) انتقال و سریعاً به یخچال با دمای ۴- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. نمونه‌های به دست آمده هموژنیزه و سپس سانتریفیوژ گردیدند. ۱۰۰ میکرولیتر محلول رویی به دست آمده از بافت مغزی با ۱۰۰ میکرولیتر از کیت نیتریک اکساید مخلوط نموده و به مدت ۱۰ دقیقه در محیط آزمایشگاه نگهداری شد. سپس جذب نوری آن با طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل آب مقطر به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتری قرا ئت گردید. استاندارد مورد استفاده سدیم نیتریت ۱ میلی‌مول بود که غلظت‌های آن۱۰ تا ۱۰۰ میکرومول مورد استفاده قرار گرفت.

برای اندازه گیری حجم مغز از قانون ارشمیدس استفاده شد، بدین صورت که در ظرف مدرجی به اندازه‌ایی معین محلول ایزوتونیک با چگالی ۱/۰۰۵ ریخته شد، سپس مغز جنین‌ها را در این محلول غوطه‌ور کرده و تفاوت مایع جابجا شده به وسیله ترازوی دیجیتال آزمایشگاهی وزن شد. بنابراین وزن به دست آمده طبق قانون ارشمیدوس برابر با حجم جسم(سانتی متر مکعب) می‌باشد.

برای اندازه‌گیری ضخامت قشر پیشین مغز و تشکیلات هیپوکامپ پس از فیکس شدن بافت‌ها در فرمالین ۱۰درصد، بافت‌ها با دستگاه کرایومیکروتوم در برودت ۲۰ ـ درجه سانتی‌گراد با مقاطع ۱۰ میکرومتر مقاطعی آماده شد و مقاطع ده و مضربی از ده را پس از رنگ آمیزی برای انجام اندازه‌گیری ضخامت انتخاب شدند، سپس لام‌های به دست آمده با میکروسکوپ Olympus BX51 و برنامه نرم‌افزاری Olysia عکس‌برداری شده و از عکس‌های به دست آمده ضخامت قشر پیش مغز و تشکیلات هیپوکامپ انجام شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار spss و آزمون آماری آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه تجزیه و تحلیل شد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015

شکل۱: جعبه استرس

یافته‌ها

بر اساس نمودار۱ میانگین میزان نیتریک اکساید مغز جنین‌های گروه تحت استرس با آرژنین(۴۲/۰۹۱۷۱ ±۸۷/۶۳۷۵) در مقایسه با گروه کنترل(۲۹/۸۰۲۹۶± ۱۱۳/۲۰۵۰) کاهش نشان داد و همچنین میانگین نیتریک اکساید مغز جنین‌های گروه بدون استرس با آرژنین(۳۷/۲۲۸۰۱ ±۱۰۲/۹۵۷۵)در مقایسه با گروه جنین‌های شاهد (۵۷/۸۶۲۸۶± ۱۲۹/۹۲۰۰) کاهش قابل ملاحظه‌ایی داشت ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود(p>۰/۰۵). کاهش میانگین میزان نیتریک اکساید مغز جنین‌های گروه تحت استرس در مقایسه با گروه بدون استرس از نظر آماری معنی‌دار نبود(p>۰/۰۵).

بر اساس نمودار ۲ نتایج میانگین وزن جنین‌های گروه تحت استرس با آرژنین(۰/۲۷ ±۳/۴۷) در مقایسه با گروه کنترل(۰/۴۱ ±۲/۹۷) افزایش نشان داد، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود(p>۰/۰۵). همچنین میانگین وزن جنین‌های گروه بدون استرس با آرژنین(۰/۱۲±۵/۸۱) در مقایسه با گروه کنترل(۰/۴۱±۲/۹۷) و گروه تحت استرس با آرژنین افزایش نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد(p<۰/۰۵) و میانگین وزن جنین‌های گروه بدون استرس با آرژنین در مقایسه با تحت استرس با آرژنین افزایش معنی‌دار نشان داد(p<۰/۰۵)، همچنین گروه شاهد(۰/۵۷±۴/۵۳) در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت(p<۰/۰۵).

بر اساس نمودار ۳ میانگین میزان حجم مغز جنین‌های گروه تحت استرس با آرژنین(۰/۰۱۸۷۸ ±۰/۲۹۲۳) در مقایسه با گروه کنترل(۰/۰۱۲۱۹ ±۰/۲۴۷۰) افزایش نشان داد، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود. میانگین حجم مغز جنین‌های گروه بدون استرس با آرژنین(۰/۰۱۲۲۸ ±۰/۳۴۵۰) در مقایسه با گروه جنین‌های شاهد(۰/۰۰۹۳۷±۰/۳۲۹۸) افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار نبود. میانگین میزان حجم مغز جنین‌های گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری معنی‌دار بود(p<۰/۰۵). میانگین میزان حجم مغز جنین‌های گروه بدون استرس با آرژنین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار داشت.

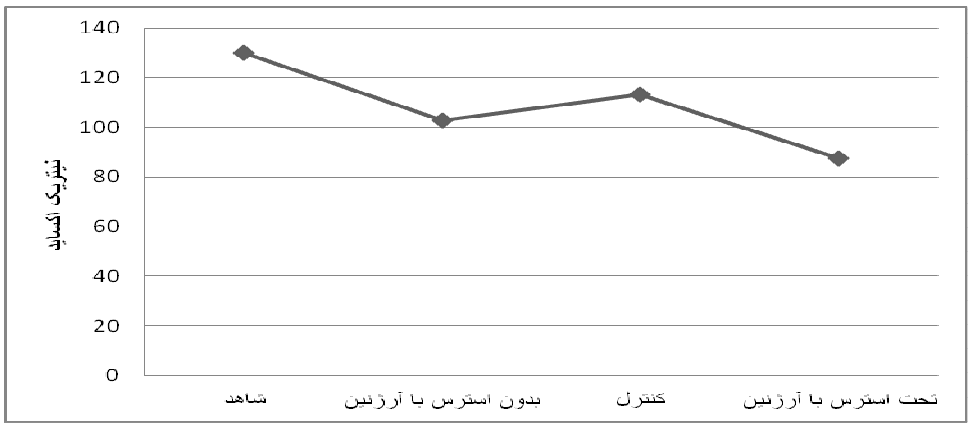
بر اساس نمودار ۴ میانگین ضخامت قشر پیش مغز گروه تحت استرس با آرژنین(۲۶۵/۲۰± ۲۰ /۱۰۶۵) در مقایسه با گروه کنترل(۲۹۰/۶۲± ۱۰۰۷/۰۵) افزایش نشان داد، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود و گروه بدون استرس با آرژنین(۳۳۹/۹۵±۱۱۱۹/۸۰) در مقایسه با گروه شاهد(۳۶۲/۰۲±۸۴ /۱۰۹۰) مقداری افزایش نشان داد ولی رابطه معنی‌داری نشان نداد(شکل۲).

میانگین ضخامت تشکیلات هیپوکامپ گروه تحت استرس با آرژنین(۳۵/۳۱±۹۷ /۲۸۵) در مقایسه با گروه کنترل(۴۸/۶۶± ۲۴۵/۹۷) افزایش نشان داد، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود(نمودار۵). گروه بدون استرس با آرژنین(۴۵/۷۴ ± ۳۱۸/۵۱) در مقایسه با گروه شاهد(۳۸/۱۸± ۶۶ /۲۹۵) اندکی افزایش نشان داد ولی رابطه معنی‌داری نشان نداد(شکل ۳ نمونه

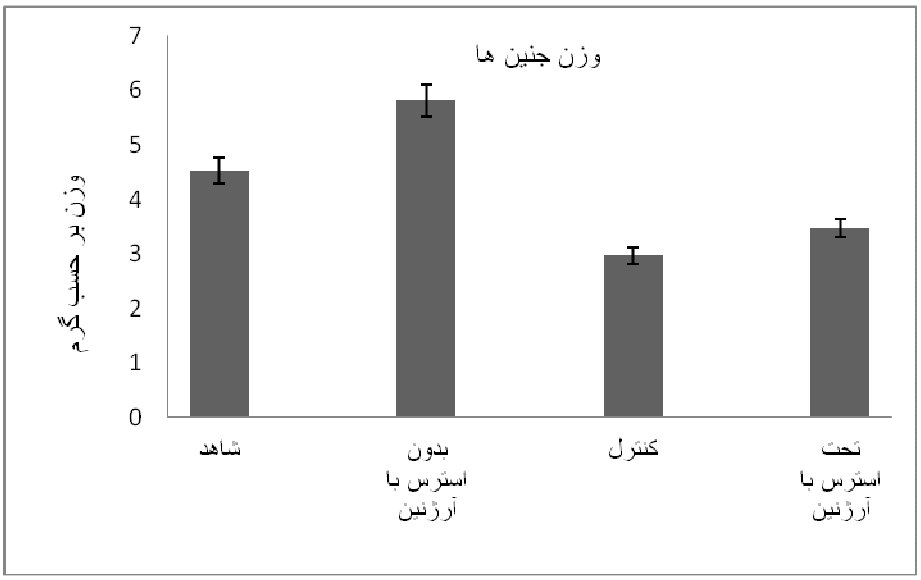
www.SID.ir

Archive of SID

بافت‌های گرفته شده از ضخامت هیپوکامپ جنـین‌هـا) (p>۰/۰۵).



نمودار۱: میزان نیتریک اکساید بافت مغز جنین‌ها در گروه‌های مورد مطالعه



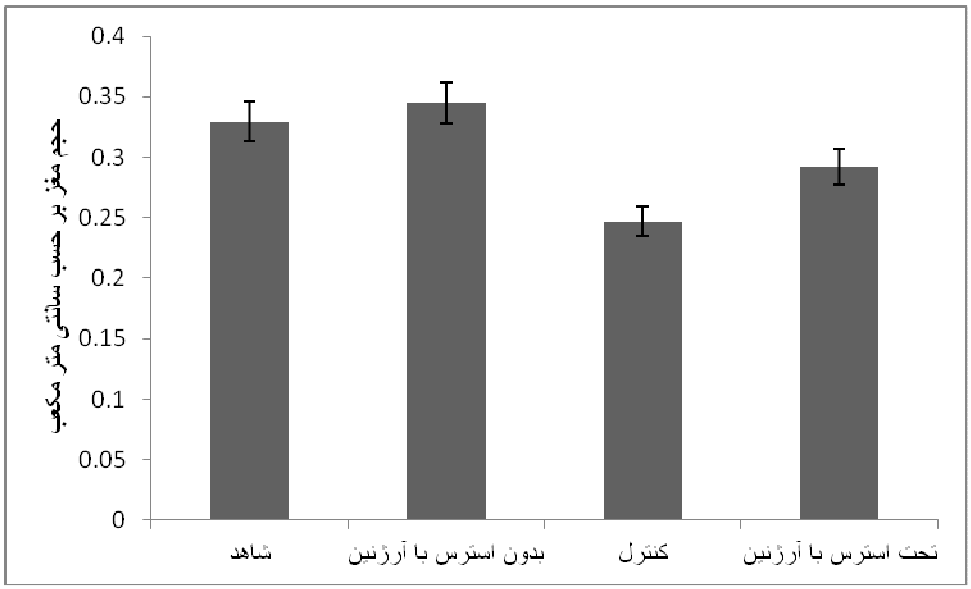
نمودار۲: تغییرات وزن جنین‌های گروه‌ها مورد مطالعه

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015

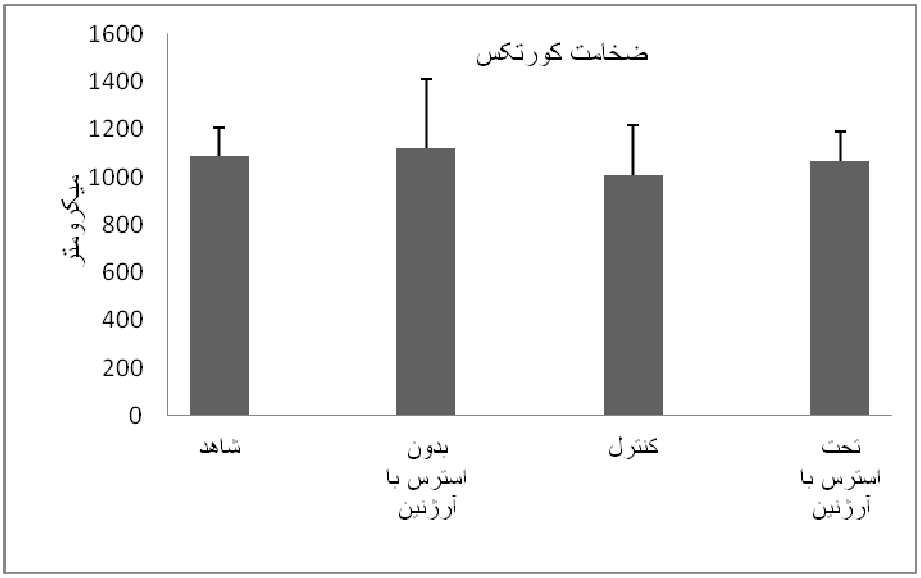
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015



نمودار۳: میزان حجم بافت مغز جنین‌ها در گروه‌های مورد مطالعه

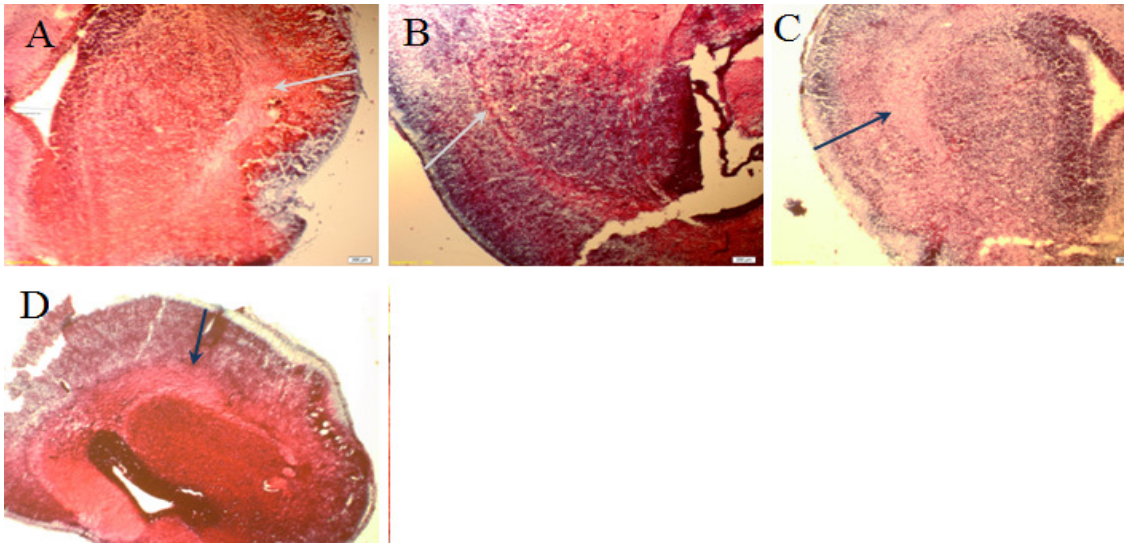


جدول ۴: میانگین ضخامت قشر پیشین مغز گروه‌های مورد مطالعه

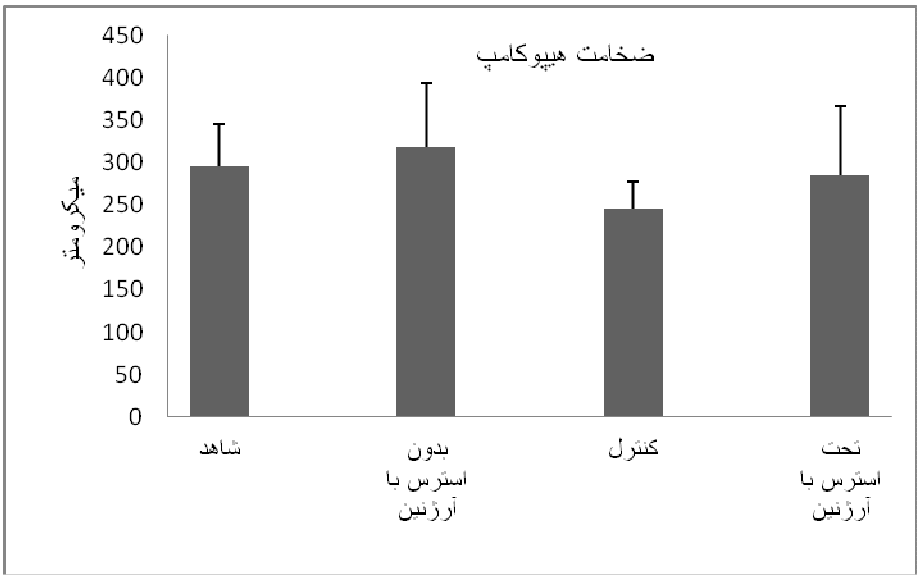
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015



شکل۲: مقاطع بافتی ازضخامت قشرپیش مغز(فلاش): تصویر A گروه شاهد، تصویرB گروه بدون استرس با آرژنین، تصویر C گروه کنترل، تصویرD گروه تحت استرس با آرژنین(با بزرگنمایی لنز شیئی x ۴ با رنگ‌آمیزی ماسون تری کروم)

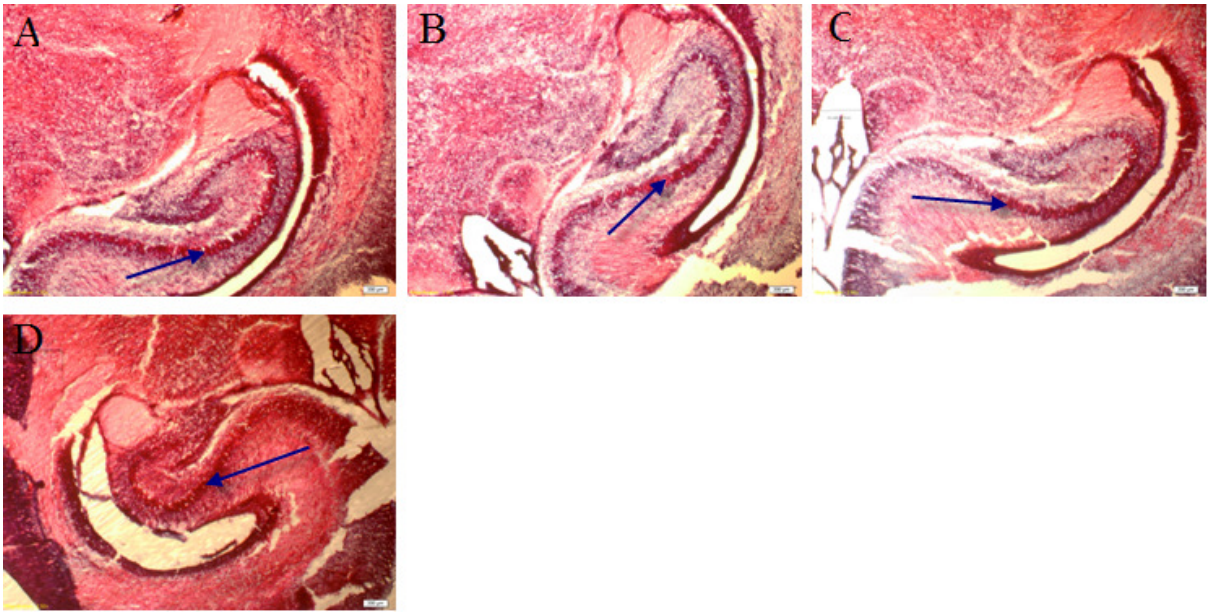


نمودار ۵: میانگین ضخامت تشکیلات هیپوکامپ در گروه‌های مورد مطالعه

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015



شکل ۳: مقاطع بافتی از ضخامت تشکیلات هیپوکامپ(فلاش): تصویرA گروه شاهد، تصویرB گروه بدون استرس با آرژنین، تصویر C گروه کنترل، تصویرD گروه تحت استرس با آرژنین با با بزرگنمایی لنز شیئی x ۴ با رنگ‌آمیزی ماسون تری کروم

بحث

رادیکال‌های آزاد به عنوان مولکول‌هایی تعریف می‌شوند که دارای یک تک الکترون جفت نشده بر روی اتم‌های خود هستند و می‌توانند به بافت‌ها آسیب برسانند. آنتی‌اکسیدان‌ها مکانیسم‌های دفاعی مقابله کننده با رادیکال‌های آزاد می‌باشند که سبب کاهش اثرات آنها در بدن می‌شوند. هدف از این مطالعه بررسی اثر حفاظتی آرژنین بر روی مغز جنین‌های مادران تحت استرس بود.

بررسی حاضر نشان داد که میزان وزن گروه‌های تحت استرس، نسبت به گروه‌های بدون استرس کاهش داشته است. به دلیل این‌که اعمال استرس در دوره بارداری می‌تواند میزان خون جفت را کاهش دهد و باعث کاهش مواد مورد نیاز رشد جنین و درنهایت کاهش وزن جنین شود(۷ و۶).

همچنین در این مطالعه میزان وزن گروه‌هایی که آرژنین دریافت کرده بودند، در مقایسه با گروه‌هایی که آرژنین دریافت نکرده بودند، افزایش نشان داد. احتمالاً نیتریک اکساید حاصله از آرژنین می‌تواند از جفت در دوران بارداری عبور نماید و به دلیل نقش گشادکنندگی و آرامش عروق خونی سبب افزایش جریان خون به رحم و سپس به جفت می‌شود(۳۴-۳۲)، همچنین نیتریک اکساید با اعمال بیان شده از پراکلامسی و از عوارض آن در دوران بارداری جلوگیری می‌نماید(۳۵). دسترسی بیشتر مادران تحت استرس به پیش ماده نیتریک اکساید باعث افزایش جریان خون رحمی مادرمی‌شود و می‌تواند از عوارض ناشی از استرس بر جنین‌ها جلوگیری نماید.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015

در مطالعه اخیر میزان نیتریک اکساید بافت مغزی در گروه‌های تحت استرس، در مقایسه با گروه‌های بدون استرس کاهش نشان داده بود. از آنجایی‌که در دوره‌های پایان بارداری میزان هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی درخون جنین افزایش می‌یابد، این مسئله باعث افزایش بیان پایرولین – ۵ - کربوکسیلات در روده کوچک بوده و سبب سنتز بیشتر آرژنین می‌شود، اختلال در این مکانسیم و کاهش سطوح سرمی آرژنین، به خصوص در نوزادان نارس متولد شده، مشکلات فراوانی از جمله بیماری‌های قلبی ـ عروقی و مشکلات تنفسی و اختلات روده‌ایی ایجاد می‌کند و علت آن این است که آرژنین موجود در جریان خون جنین باعث فعال ماندن چرخه اوره در بدن می‌شود که می‌تواند باعث تکامل روده کوچک، ریه و بافت‌های دیگر شود(۳۶ و ۳۱، ۲۲، ۲۱). هم‌چنین آرژنین تحریک کننده ترشح بعضی از هورمون‌ها از جمله هورمون رشد و انسولین در پستانداران و به خصوص نوزادان نارس می‌باشد(۳۷)، و از طریق ترکیبات آنها در فرآیند تکامل و تنظیم هموستاز جنین‌ها و نوزادان نقش مهمی ایفاء می‌کند(۳۹ و ۳۸) و بیشترین نقش را در این دوران نسبت به اسیدهای آمینه دیگر دارد. در مطالعه آندراگوارونی و همکاران مشاهده شد که مصرف گلوکوکورتیکوئیدی به صورت اگزوژن در دوره بارداری باعث بهبود بیشتر عملکرد ارگانی در نوزاد نارس و بالغ می‌شود. در راستای این یافته، سان‌هانگ و همکاران اعلام نمودند که گلوکوکورتیکوئیدها در روند نروژنسیز باعث تمایز سلولی می‌شود، ولی می‌تواند باعث کاهش تکثیر سلولی در بزرگسالی شوند(۴۰). هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی از طریق بند ناف به جنین انتقال می‌یابند و با سنتز بیشتر آرژنین و تبدیل آن به نیتریک اکساید می‌توانند باعث تکامل بیشتر جنین مادران تحت استرس شوند که یافته حاضر می‌تواند با مطالعه ایشان هم‌خوانی داشته باشد. کمبود مواد تولید کننده این اسید امینه و افزایش هورمون‌های محور هیپوتالاموس - هیپوفیز – غده فوق کلیه می‌تواند بر جنین تأثیرات فراوانی را به همراه داشته باشد. مطالعه عبادی و همکاران بر روی میزان نیتریک اکساید بافت مغزی موش‌های بزرگسال انجام شده بود و افزایش میزان این ماده را در گروه‌های تحت استرس با آرژنین نشان دادند(۴۱). از آنجایی‌که متابولیسم آرژنین در کودکان و بزرگسالان از طریق کلیه بوده و با نوزادن نارس متفاوت است(۴۲) و هم‌چنین تفاوت عملکرد گلوکوکورتیکوئیدها در بزرگسالان در مقایسه با جنین‌ها می‌تواند تفاوت نتایج به دست آمده را توجیه نماید.

در مطالعه اخیر میزان حجم مغز نیز در گروه‌های تحت استرس در مقایسه با گروه‌ها ی بدون استرس کاهش چشمگیری را نشان داد، هم‌چنین حجم مغز در گروه‌هایی که آرژنین دریافت نموده بودند، در مقایسه با گروه‌هایی که آرژنین دریافت نکرده بودند، افزایش چشمگیری نشان داد. تحقیق‌ها نشان دادند که استرس‌ها می‌توانند باعث تغییراتی بر روی حجم مغز شوند. تنش‌های طولانی مدت به خصوص در دوران

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015

رشد باعث کاهش حجم در قسمت‌های مختلف مغز می‌شوند(۴۳). بعضی از داروها با تأثیر بر مغز می‌توانند در تغییرات حجم مغز دخیل باشند از جمله در مطالعه موهان و همکاران و همچنین نیلی سیلوا با تأثیر لاموتریژین برروی مغز جنین‌های موش انجام داده بودند نشان دادند که این دارو باعث افزایش حجم مغز در جنین‌های تحت آزمایش شده بود(۴۴ و۱۸).

در بررسی انجام شده ضخامت قشر پیش مغز و تشکیلات هیپوکامپ گروه تحت استرس در مقایسه با گروه‌های بدون استرس کاهش نشان داد. استرس می‌تواند با تأثیر روی محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - غده آدر نال باعث افزایش سطوح کورتیکواستروئیدی شود و این هورمون‌ها از طریق گیرنده‌هایی که در سراسر مغز حضور دارند از جمله در قشر پروفرونتال و هیپوکامپ باعث اختلال در تکامل سلول‌های این نواحی، کاهش خارهای دندریتی آنها شده و در نتیجه تبادلات سلولی کاهش می‌یابد و به دنبال آن مرگ سلولی اتفاق می‌افتد(۴۵). به خصوص در جنین، سلول‌های اجدادی مغز دارای که گیرنده‌های فراوانی از این نوع بوده، بیشترین تأثیر را می‌پذیرند(۵۰). همچنین استرس منجر به تولید رادیکال‌های آزاد از جمله سوپراکسید هیدروکسیل و لیپید پراکسیل(۴۵ و ۴۶) به خصوص در مغز می‌شود و به دنبال آن واکنش‌های اکسایش لیپیدی را ایجاد می‌کند. عدم حضور آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مغز می‌تواند برای مغز بسیار خطرناک باشد(۴۹ــ۴۶) و می‌تواند کاهش ضخامت را در گروه‌های تحت استرس توجیه نماید. در بررسی انجام شده مشاهده شد که میزان ضخامت هیپوکامپ و قشر پیش مغز در گروه‌هایی که آرژنین می‌گرفتند، در مقایسه با گروه شاهد(بدون استرس با نرمال سالین) و کنترل(تحت استرس بانرمال سالین) افزایش دارد. آرژنین با عملکرد آنتی‌اکسیدانی خود و از طرفی ترکیب‌های نمکی خود می‌تواند با گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی ترکیب شود و از تأثیر بیشتر این هورمون‌ها جلوگیری کند(۵۰) و همچنین با توجه به مکانیسم هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدها در جنین و تأثیر آنها در جذب بیشتر آرژنین از طریق روده کوچک جنین و مکانیزم آن در تولید نیتریک اکساید و تأثیر این ماده حیاتی در روند تکاملی و هموستاز جنینی می‌توان گفت که آرژنین در دوران استرس مادر می‌تواند از شدت عوارض کم نماید.

نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که آرژنین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان می‌تواند در شرایط پر استرس مادران باردار، با تنظیم هموستاز بدن جنین و حذف رادیکال‌های آزاد حاصله، شرایط پایدارتری برای جنین‌ها ایجاد کند و باعث افزایش وزن جنین‌ها، افزایش حجم مغز و افزایش ضخامت مغز درگروه‌های تحت استرس شود. میزان مصرف نیتریک اکساید حاصله از آرژنین و کاهش سطوح آن در گروه‌های مورد آزمایش و همچنین افزایش وزن و حجم مغزی در گروه‌های مربوطه نشان دهنده تأثیرات

www.SID.ir

Archive of SID

تکاملی آن می‌باشد. آرژنین به عنوان یک اسید آمینه ضروری در دوران جنینی می‌تواند به عنوان یک مکمل غذایی مفید در رژیم غذایی مادران گنجانده شود. پیشنهاد می‌شود که اثر آرژنین با دوزهای متفاوتی بر منقبض کننده‌ها و متسع کننده‌های عروقی بررسی شود تا بتوان به اطلاعات جامعی در مورد مکانسیم‌های آن دست یافت.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم تشریح بود که با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015

REFERENCES

1.Pitkanen A, Kharatishvili I, Karhunen H, Lukasiuk K, Immonen R, Nairismagi J. et . al. Epileptogenesis in experimental models. Epilepsia 2007; 48(2): 13-20.
2.Chrousos GP. The role of stress and the hypothalamic–pituitary-adrenal axis in the pathogenesis of the metabolic syndrome. Int J Obes Relat Metab Disord 2000; 24(2): 50-5.
3.Egliston KA, McMahon C, Austin MP. Stress in pregnancy and infant HPAaxis function: Conceptual and methodological issues relating to the use of salivary cortisol as an outcome measure . Psychoneuroendocrinology. 2007; 32(1): 1-13.

4. Johnson EO, Kamilaris TC, Chrousos GP, Gold PW. Mechanisms of stress: Neurosci Biobehav Rev 1992; 16(2): 115-30.
5.Ottenweller JE, Natelson BH, Pitman DL, Drastal SD. Adrenocortical and behavioral responses torepeated stressors: toward an animal model of chronicstress and stress-related mental illness. Biol Psychiatry 1989; 26: 829–41.
6.Helmstetter FJ, Bellgowan PS. Hypoalgesia in response to sensitization during acute noise stress. Behav Neurosci 1994; 108(1): 177-85.

7.Grossman ML, Basbaum AL, Fields HL. Afferent and connections of the rat tail flick reflex (a model used to analyse pain control mechanisems). J comp Neurol 1982; 206(1): 9-16.
8.Mychasiuk R, Harker A, Ilnytskyy S, Gibb R. Paternal stress prior to conception alters DNA methylation and behaviour of developing rat offspring. Neuroscience 2013; 241:100-5.
9.Deleo JA, Floyd RA, Carney JM. Increased in vitro lipidperoxidation of gerbil cerebral cortex as compared with rat. Ncurosci Lett 1986; 67: 63-7.
10.Matsumoto K, Yobimoto K, Huong NT, Abdel-Fattah M, Van Hien T, Watanabe H. Phychological stress–induced enhancement of brain lipid peroxidation via nitric oxide system and its modulation by anoxiolytic and anxiogenic Drugs in mice. Brain Res 1999; 839(1): 74-84.
11. Olivenza R, Moro MA, Lizasoain I, Lorenzo P, Fernández AP, Rodrigo J, et al. Chronic stress induces the expression of inducible nitric oxide synthase in rat brain cortex. J Neurochem. 2000; 74(2): 785-91.
12. Gurel A, Coskun O, Armutcu F, Kanter M, Ozen OA. Vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in frontal cortex and hippocampus: biochemical and histological studies. J Chem Neuroanat. 2005; 29(3): 173-8.
13.Liv J, Wang X, Mori A. Immobilization stress causes oxidative damage to and DNA in the brain of rats. FASEB J 1996; 10(13): 1532-8.
14.Bagchi K, Puri S. Free radicals and antioxidants in health and disease. East Mediterr Health J1998; 4(2): 350-60.
15.Akhondzadeh S, Naghavi HR, Vazirian M, Shayeganpour A, Rashidi H, Khani M. Passion flower in the treatment of generalized anxiety: a pilot double-blind randomized controlled trial with oxazepam. J Clin Pharm Ther 2001; 26(5): 363-7.
16.Ziaei T, Hosseinzadeh H. Muscle relaxant, hypnotic and anti-anxiety effects of pistacia vera gum hydroalcoholic extract in mice. Journal of Medicinal Plants 2010; 9(36); 96-105.
17.Jiu-Yu T, Yuan-shan Z, Chung P, Wong P, Hagg U. Effect of extract of Valeriana officinalis on rat depression model. Journal of Chiness Clinical Medicine 2008; 3(7): 374-8.
18.Mohanty C, Shah N, Dhungel S, Das BK. Effect of lamotrigine on fetal rat brain. People's Journal of Scientific Research 2011; 4(2): 5-7.
19.Dillon EL, Knabe DA, Wu G. Lactate inhibits citrulline and arginine synthesis from proline in pig enterocytes. J Physiol Gastrointest Liver Physiol 1999; 276(1): 1079– 86.
20.Castillo L, de Rojas T, Chapman TE, Vogt J, Burke JF, Tannenbaum SR,et al. Splanchnic metabolism of dietary arginine in relation to nitric oxide synthesis in normal adult man. Proc Natl Acad Sci U S A 1993; 90(1): 193–197.
21.Böger RH, Tsikas D, Bode-Böger SM, Phivthong-Ngam L, Schwedhelm E, Frölich JC. Hypercholesterolemia impairs basal nitric oxide synthase turnover rate: a study investigating the conversion of L-[guanidino-N_2]-arginine to N-labeled nitrate by gas chromatography-mass

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015

spectrometry. Nitric Oxide. 2004; 11(1): 1-8.
22.Wu G, Jaeger LA, Bazerb FW,Rhoadsc JM. Arginine deficiency in preterm infants: biochemical mechanismsand nutritional implication J Nutr Biochem. J Nutr Biochem 2004; 15(8): 442–45.
23.Moncada S, Palmer MJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacological Reviews 1991; 43 (2): 109–142.
24.Reynaert NL, Ckless K, Wouters EF, Vliet AD, Heininger YM. Nitric oxide and redox signaling in allergic airway inflammation. Antioxid Redox Signal 2005; 7(2):129-43.
25.Mondillo C, Pagotto RM, Piotrkowski B, Reche CG, Patrignani ZJ, Cymeryng CB, et al. Involvement of nitric oxide synthase in the mechanism of histamine-induced inhibition of Leydig cell steroidogenesis via histamine receptor subtypes in Sprague Dawley rats. Biol Reprod 2009; 80(1):144-52.
26.Cox BM. Opioid receptor-G protein interactions: acute and chronic effects of opioids. Handbook of Experimental Pharmacology 1993; 104(1): 145-88.
27.Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. Biochem Pharmacol 1989;38(11):1709-15.
28.Chou TC, Yen MH, Li CY, Ding YA. Alterations of nitric Oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. Hypertension. 1998; 31(2): 643-8.
29.Harlan RE, Webber DS, Garcia MM. Involvement of nitric oxide in morphine-induced C-Fos expression in the rat striatum. Brain Res Bull 2001; 54(2): 207-12.
30.Girouard H, Wang G, Gallo EF, Anrather J, Zhou P, Pickel VM, et al. NMDA receptor activation increases free radical production through nitric oxide and NOX2. J Neurosci 2009; 29(8): 2545-52.
31.Calabrese V, Mancuso C, Calvani M, Rizzarelli E, Butterfield DA, Stella AM. Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. Nat Rev Neurosci 2007; 8(10): 766-75 32.Thomas DD, Ridnour LA, Isenberg JS, Flores-Santana W, Switzer CH, Donzelli S, et al. The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling. Free Radic Biol Med 2008; 45(1): 18-31.
33.Keilhoff G, Seidel B, Noack H, Tischmeyer W, Stanek D, Wolf G. Patterns of nitric oxide synthase at the messenger RNA and protein levels during early rat brain development . Neuroscience 1996; 75(4): 1193–120.
34.Norman JE, Cameron IT. Nitric oxide in the human uterus. Reproduction and Fertility. Reviews of Reproduction 1996; 1: 61–68.
35.Vadillo-Ortega F, Perichart-Perera O, Espino S, Avila-Vergara MA, Ibarra I, Ahued R, et al. Effect of supplementation during pregnancy with L-arginine and antioxidant vitamins in medical food on pre-eclampsia in high risk population: randomised controlled trial.BMJ 2011; 19(342): 2901-9.
36.Quaroni A, Tian JQ , Göke M, Daniel K. Podolsky. Glucocorticoids have pleiotropic effects on small intestinal crypt cells . Am J Physiol 1999; 277(5): 1027-40.
37.Reitano G, Grasso S, Distefano G, Messina A. The serum insulin and growth hormone response to arginine and to arginine with glucose in the premature infant. J Clin Endocrinol 1971;33(6): 924–8. 38.Fan WQ, Smolich JJ, Wild J, Yu YH, Walker AM. Nitric oxide modulates regional blood flow differences in the fetal gastrointestinal tract. Am J Physiol 1996;271(4): 598-604.
39.Fakler CR, Kaftan HA, Nelin LD. Two cases suggesting a role for the L-arginine nitric oxide pathway in neonatal blood pressure regulation. Acta Paediatr 1995; 84(4): 460-2
40.Lee SH, Lee YS, Son H. Differential effects of corticosterone and dexamethasone on hippocampal neurogenesis in vitro. Biochem Biophys Res Commun 2004; 317(2): 484-90.
41.Ebadi B, Mehdizadeh M, Nahavandi A, Shariati T, Soleimani S, Delaviz H. Effects of nitric oxide on the prefrontal cortex in stressed rats. Neural Regenration Research 2010; 5(14): 1096-1099.
42.Amin HJ, Soraisham AS, Sauve RS. Neurodevelopmental outcomes of premature infants treated with L-arginine for prevention of necrotising enterocolitis. J Paediatr Child Health 2009; 45(4): 219-23.
43.Bremner JD. Stress and Brain Atrophy. CNS Neurol Disord Drug Targets. 2006; 5(5): 503–512.
44.Marchi NSD, Azoubel R, Tognola WA. Teratogenic effects of lamotrigine on rat fetal brain . Arq Neuropsiquiatr 2001; 59(2): 362-364.

www.SID.ir

Archive of SID

45.Grigoryan G, and Segal M. Prenatal Stress Affects Network Properties of Rat Hippocampal Neurons. Biol Psychiatry. 2013; 73(11): 1095-102
46. Deleo JA, Floyd RA, Carney JM. Increased in vitro lipid peroxidation of gerbil cerebral cortex as compared with rat. ncurosci Lett 1986; 67 (1): 63- 67.
47- Matsumoto K, Yobimoto K. Psychological stress-induced enhancement of brain lipid peroxidation via nitric oxide systems and its modulation by anxiolytic and anxiogenic drugs in mice. Brain Res 1999; 839(1): 74-84.
48.Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. Free Radic Biol Med 1990; 9: 515-540
49 .Kovács P, Juránek I, Stankovicová T, Svec P. Lipid peroxidation during acute stress. Pharmazie. 1996; 51(1): 51-3.
50.Nemoto T, Ohara-Nemoto Y, Ota M. Interaction of glucocorticoid receptor from rat liver with protamine and arginine. J Steroid Biochem 1988; 29(1): 127-33.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015

www.SID.ir

Archive of SID

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

Original Article

Protective effects of arginine on fetal brain under maternal immobilization stress

Enanat E[1], Delaviz H[2*], Mahmoudi R[2], Jafari Barmak M[2], Roozbehi **A[2], Mirzaei A[3], Rad P[4], Servatkhah M[1], Moreidikia F[1]**

[1]Student Research Committee, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [2]Cllular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [3]Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [4]Department of Midwifery, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 17 Sep 2014 Accepted: 1 Mar 2015

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 11:15 IRST on Sunday December 13th 2015

Abstract:

Background & aim: Arginine by regulating the biological activity of the brain plays an important role in reducing stress. Today's, stress is one of the century disease that created many problem. This study conducted to determine the protective effect of arginine on nitric oxide levels in maternal fetal brain tissue under stress.

Methods: Twenty pregnant Wistar rats (200-250 gr) were randomly divided into four groups. With and without stress groups received arginine (200 mg/kg) intraperitoneal from 5 – 20 days of pregnancies. Control with and sham without stress received 2 ml of normal saline. The pregnant rats were anesthetized by ketamine (100 mg/kg) on the day 20 then the fetuses removed and weighed. Twenty five brain of fetal brain rat from each group were chosen for measuring of forebrain thickness and brain volume. Another 25 brain were chosen for measuring of nitric oxide. Data were analyzed by one way ANOVA.

Results: Nitric oxide Levels reduced in stress rats treated with arginine compared to control group ($P<0.05$). The mean thickness of forebrain and hippicampal formation decreased in stress rats versus unstressed, but was not significant. The mean weight decreased significantly in stress group compared to the unstressed group ($P<0.05$).

Conclusions: Arginine could protect the brain tissue and fetal weight by reducing the level of oxidative stress in the pregnant rats.

Keywords: Stress, Fetal brain, Arginine, Nitric oxide, Pregnant rats.

[*]**Corresponding Author: Delaviz H, Cllular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran**

Email: delavizhamdi83@gmail.com

Please cite this article as follows:

Enanat E, Delaviz H, Mahmoudi R, Jafari Barmak M, Roozbehi A, Mirzaei A, et al. Protective effects of arginine on fetal brain under maternal immobilization stress. Armaghane-danesh 2015; 20 (7): 623-638.

www.SID.ir