

## مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره ۱۶، آذر ۱۳۹۶، ۸۴۵-۸۵۶

# تأثیر استرس دوران بارداری بر تکامل لوب پیشانی و ارزیابی آستانه تشنج فرزندان موش‌های کوچک آزمایشگاهی

فاطمه حکیمی<sup>۱</sup>، غلامرضا کاکا<sup>۲</sup>، مهرانگیز صدوقی<sup>۳</sup>

دریافت مقاله: ۹۶/۲/۳۱ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۶/۴/۱۷ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۶/۹/۸ پذیرش مقاله: ۹۶/۹/۱۲

### چکیده

**زمینه و هدف:** استرس دوران بارداری ضمن افزایش سطح گلوکوکورتیکوئید در جنین، اثرات زیانباری روی ساختار عصبی دارد. در این تحقیق، اثر استرس دوران بارداری مادر بر تکامل قشر لوب پیشانی و آستانه تشنج فرزندان موش‌ها بررسی شد. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۳۰ موش ماده باردار به دو گروه مساوی استرس و بدون استرس تقسیم شدند. گروه استرس روزانه یک ساعت و به مدت ۱۴ روز، استرس بی‌حرکتی را تجربه کردند. فرزندان موش‌ها به سه گروه چهارتایی تقسیم شدند. گروه کنترل که مادرانشان استرس ندیده بودند و فرزندان نیز PTZ دریافت نکردند. گروه شم که مادرانشان استرس ندیده ولی فرزندان PTZ دریافت کرده بودند و گروه تجربی که مادرانشان استرس دیده و فرزندان داروی PTZ دریافت کردند. برای مطالعه لوب فرونتال جنین موش، مغز فرزندان موش خارج و فیکس شد. مقاطع ۵ میکرومتری تهیه، به روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. مطالعات هیستومورفومتری با استفاده از نرم‌افزارهای هیستولاب و موتیک انجام گردید.

**یافته‌ها:** نتایج بدست آمده افزایش معنی‌دار آستانه تشنج در فرزندان که مادرانشان تحت استرس قرار گرفته بودند را در مقایسه با فرزندان که مادرانشان تحت استرس قرار نگرفته بودند، نشان داد ( $P < 0/001$ ). کاهش معنی‌دار ضخامت لایه‌های قشر لوب پیشانی در گروه تجربی در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم دیده شد ( $P < 0/05$ ). تعداد سلول‌های عصبی و گلیال و تعداد عروق خونی در گروه تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شم کاهش معنی‌دار نشان داد ( $P < 0/05$ ). **نتیجه‌گیری:** استرس دوران بارداری می‌تواند سبب افزایش آستانه تشنج فرزندان و همچنین تغییراتی در تکوین و ساختار لوب پیشانی فرزندان موش‌ها شود.

**واژه‌های کلیدی:** لوب پیشانی، تشنج، استرس، پنتیلن تترازول، هیستومورفومتری

۱- کارشناس ارشد گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

۲- نویسنده مسئول) دانشیار مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

تلفن: ۰۲۱-۲۶۱۲۷۲۸۶، دورنگار: ۰۲۱-۲۶۱۲۷۲۸۶، پست الکترونیکی: gh\_kaka@yahoo.com

۳- استاد گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

## مقدمه

استرس، به عنوان آشفتگی روحی یا عاطفی تعریف می‌شود که در پاسخ به عوامل زیان‌آور خارجی و همچنین محرک یا موقعیت ایجادکننده آن رخ می‌دهد [۱]. استرس تهدیدی برای زندگی موجودات زنده 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 سیستم عصبی مرکزی عمل تحریکی و تخریبی ایفا 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 هیچ علامتی از خود بروز نمی‌دهند [۵]. استرس باعث افزایش آپوپتوز سیستم عصبی می‌شود [۶-۷]. تحقیقات نشان می‌دهند انواع استرس‌های فیزیکی - 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، بی‌حرکتی و غیره می‌باشند [۹]. هنگامی که شخصی با عوامل استرس‌زا مواجه می‌شود، دو آبشار اصلی فیزیولوژیک در مغز وی رخ می‌دهد: ۱- آزاد شدن

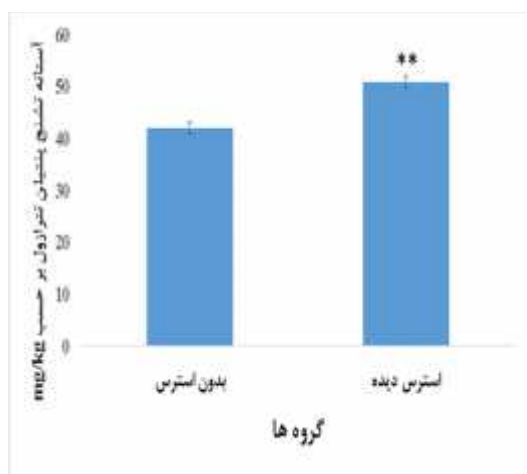
کاتکول‌آمین‌ها (اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین‌ها) و ۲- تحریک محور (Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA). که موجب ترشح بیش از حد هورمون‌های آزادکننده کورتیکوتروپین، آدرنوکورتیکوتروپین و کورتیزول می‌باشد [۱۰]. تغییر فعالیت محور HPA در نتیجه استرس دوران بارداری، ممکن است سبب تغییراتی در ساختار و عملکرد گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی شود [۱۱]. نتایج یک مطالعه نشان داده است در موش‌هایی که پیش از تولد استرس دیده‌اند، به علت کاهش رسپتورهای گلوکوکورتیکوئیدی، فیدبک مهاري هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین تضعیف شده و سطح پلاسمایی کورتیکوسترون افزایش می‌یابد و از این رو در سازش با محیط جدید از خود ضعف نشان می‌دهند [۱۲]. تحقیقات نشان داده‌اند 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 در مغز و غدد فوق کلیوی و تغییرات نوروتوکسیک در نورون‌های مغزی جنین می‌شوند [۱۴]. مطالعات نشان داده‌اند که استرس‌های حاد از جمله استرس بی‌حرکتی باعث تغییرات معنی‌داری در فعالیت حرکتی، اضطراب و اثرات ضد دردی می‌گردند [۱۵-۱۶]. استرس مادر موجب تغییر در مورفولوژی نورون‌های مغزی جنینی می‌گردد اما استرس در مغز بالغین بیشتر باعث دژنره شدن نورون‌های مغزی می‌شود [۱۷].

تحقیقات در مورد اثر استرس بر صرع نشان داده شده است که استرس تجربی نظیر استرس شنا در حیوانات اثرات ضد صرعی دارد [۱۹-۱۸]. مطالعه‌ای نیز روی مغز موش‌های صحرایی و سوری انجام شده که نشان داده استرس باعث کاهش فعالیت‌های تشنجی شده است [۲۰]. هدف از تحقیق حاضر تعیین اثر استرس دوران بارداری بر تکامل لوب پیشانی و آستانه تشنج فرزندان موش‌های کوچک آزمایشگاهی بود.

### مواد و روش‌ها

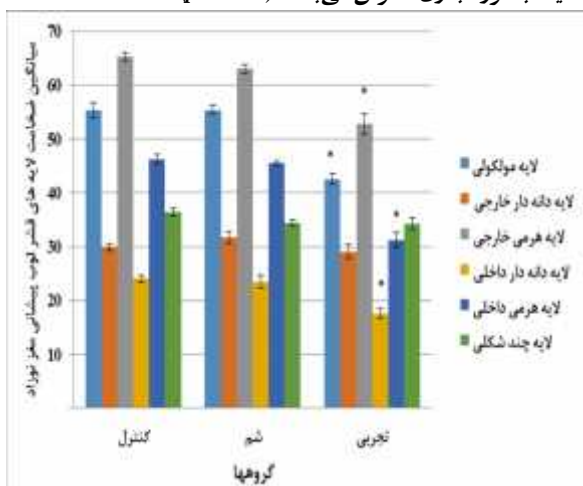
در این مطالعه تجربی (۱۳۹۵)، همه آزمایش‌ها مطابق با دستورالعمل کمیته نظارت بر نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله انجام گرفت و از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI (Naval Medical Research Institute) استفاده شد. حیوانات از دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) تهیه شدند. دوره شبانه‌روزی طبیعی و در دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتیگراد با آب و غذای کافی نگهداری شدند. تعداد ۳۰ سر موش ماده به وزن ۳۰-۲۵ 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 مساوی استرس‌دیده و بدون استرس تقسیم شدند. به منظور وارد کردن استرس مزمن (استرس بی‌حرکتی) موش‌های باردار به مدت ۱۴ روز از روز صفر تا روز ۱۴ بارداری، روزانه یک ساعت درون لوله پولیکا قرار گرفتند. برای جلوگیری از

تلاقی موش‌ها، استرس در ساعت‌های مختلفی اعمال شد. فرزندان موش‌ها تحت شرایط طبیعی متولد شدند و پس از رسیدن به سن ۸ هفتگی، در سه گروه ۴ تایی قرار گرفتند. گروه کنترل: 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 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 مادرانشان تحت استرس دوره بارداری قرار گرفته بودند (گروه تجربی) با فرزندان موش‌هایی که تحت استرس دوره بارداری قرار نگرفته بودند (گروه شم) با داروی پنتیلن تترازول به عنوان شاخص اندازه‌گیری آستانه تشنج، مورد مقایسه قرار گرفت. در این مطالعه اندازه‌گیری آستانه تشنج با تزریق PTZ  $0.5\%$  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 زمان مشاهده حملات شدید تشنجی اندازه‌گیری شد. سپس فرزندان هر سه گروه با کلروفورم کشته شدند و با جراحی مغزها خارج شده و به مدت ۴۸ ساعت در محلول بوئن تثبیت گردیدند. پس از پردازش بافتی، قالب‌گیری از مغزها در داخل پارافین انجام گرفت. سپس توسط میکروتوم برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر به صورت کروئال تهیه گردید. برش‌ها از ناحیه لوب پیشانی به صورت ۱ به ۵ روی لام قرار داده شده و با استفاده از روش هماتوکسیلین-اوتوزین



نمودار ۱- میانگین آستانه تشنج پس از دریافت PTZ در دو گروه استرس دیده و بدون استرس

علامت \*\* نشان دهنده افزایش معنی دار در گروه استرس دیده در مقایسه با گروه بدون استرس می باشد. ( $p < 0.001$ )



نمودار ۲- مقایسه میانگین ضخامت لایه‌های قشر پیشانی مغز در گروه‌های کنترل، شم، تجربی. علامت \* نشان دهنده کاهش معنی دار نسبت به گروه‌های کنترل و شم می باشد. ( $p < 0.05$ )

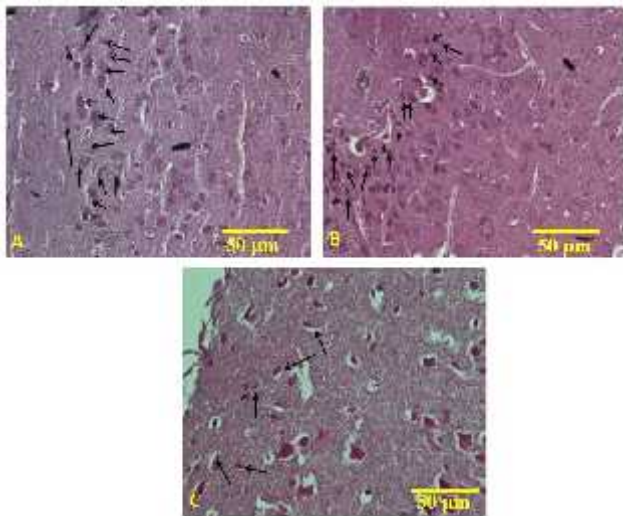
میانگین تعداد سلول‌های عصبی در سطحی برابر ۱۰۰۰ میکرومترمربع بررسی شد (شکل ۱). شمارش تعداد سلول‌ها در لایه‌های مختلف بافت قشر پیشانی مغز نشان داد بین گروه‌های کنترل و شم اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. در هر ۶ لایه، بین گروه تجربی با گروه کنترل و شم اختلاف مشاهده شد که بیانگر کاهش و افزایش تعداد سلول‌ها می باشد ( $p < 0.05$ ). این تغییرات تنها در لایه‌های

(H&E) رنگ‌آمیزی گردیدند. مقاطع بافتی به وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی‌های ۴۰، ۴۰۰ و ۱۰۰۰ مطالعه و توسط نرم‌افزارهای هیستولب و موتیک بررسی شدند. اندازه‌گیری‌ها و شمارش در هر نمونه حداقل سه بار انجام شد. داده‌های بدست آمده به روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین ارائه گردید و تفاوت میانگین‌ها در سطح  $p < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

نتایج نشان داد آستانه تشنج فرزندان که مادرانشان تحت استرس دوران بارداری بودند نسبت به گروهی که مادرانشان تحت استرس نبوده‌اند افزایش معنی‌داری داشت (نمودار ۱) ( $p < 0.001$ ).

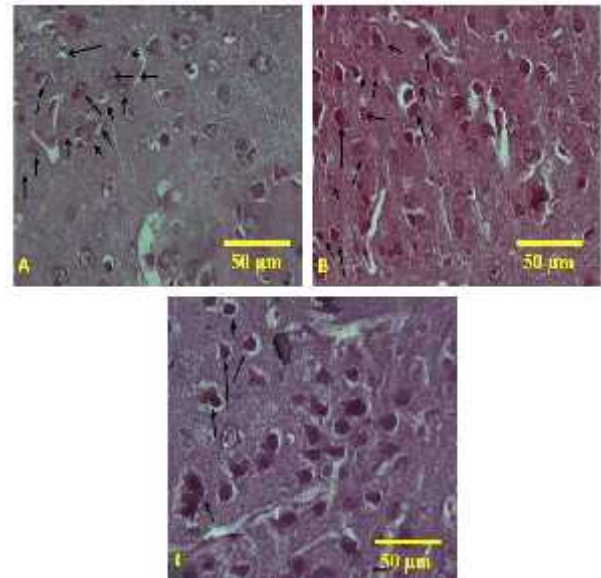
همانطور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود میانگین ضخامت لایه‌های مولکولی، هرمی داخلی و خارجی و دانه‌دار داخلی بطنی بر حسب میکرومتر در گروه تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شم کاهش معنی‌داری داشت ( $p < 0.021$ ) اما میانگین سایر لایه‌های قشر لوب پیشانی شامل لایه‌های چندشکل و دانه‌دار خارجی نسبت به گروه‌های شم و کنترل کاهش یافت که این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.



شکل ۲- مقطع میکروسکوپی از لایه‌های مختلف لوب پیشانی جهت شمارش سلول‌های گلیال در گروه کنترل (A)، گروه شم (B) و گروه تجربی (C).  
(بزرگنمایی ۴۰۰، رنگ آمیزی H&E، فلش‌های سیاه رنگ نشان‌دهنده سلول‌های گلیال می‌باشند).

نتایج حاصل از شمارش تعداد عروق خونی در سطحی برابر با ۱۰۰۰ میکرومترمربع و اندازه‌گیری مساحت آن‌ها (شکل ۳) بیانگر کاهش تعداد و مساحت عروق در گروه تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شم بود که این کاهش در لایه‌های EGL و IPL از نظر آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ) ولی در لایه‌های EPL (external pyramidal layer) و IGL (internal granular layer) اختلاف معنی‌دار نبود.

(molecular ML و (external granular layer) EGL layer) معنی‌دار بود.



شکل ۱- مقطع میکروسکوپی لایه‌های مختلف لوب پیشانی جهت شمارش سلول‌های عصبی در گروه کنترل (A)، گروه شم (B) و گروه تجربی (C).  
(بزرگنمایی ۴۰۰، رنگ آمیزی H&E، فلش‌های سیاه رنگ نشان‌دهنده سلول‌های عصبی می‌باشند).

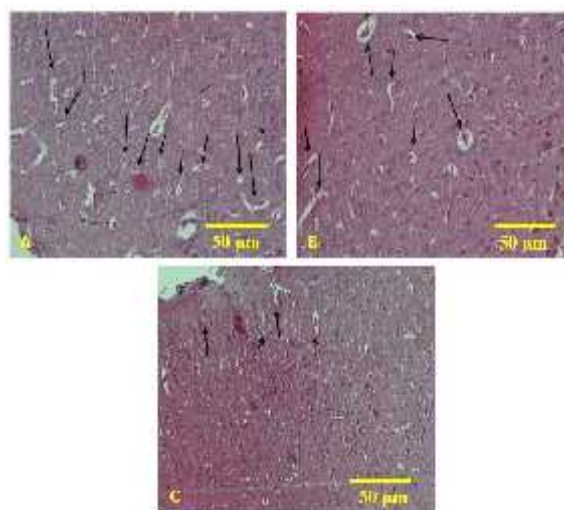
میانگین تعداد سلول‌های گلیال در سطحی برابر ۱۰۰۰ میکرومترمربع بررسی شد (شکل ۲). شمارش تعداد سلول‌ها در لایه‌های مختلف بافت قشر پیشانی مغز نشان داد بین گروه‌های کنترل و شم اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. در هر ۶ لایه، میان گروه تجربی با گروه کنترل و شم اختلاف وجود داشت که بیانگر کاهش تعداد سلول‌ها در همه لایه‌ها جز لایه IPL (internal pyramidal layer) می‌باشد ( $p < 0.05$ ). این کاهش در همه لایه‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود اما در لایه IPL تعداد سلول‌ها افزایش یافته بود که از نظر آماری معنی‌دار نبود.

تشنج فرزندان گردید. استرس می‌تواند سبب بروز تغییراتی در آستانه تشنج انسان و حیوان شود، ولی مکانیسم‌های زیر بنایی نامشخص است.

در مطالعه Reddy و همکاران شواهد نشان داد رسپتور  $GABA_A$ ، نورواستروئید بدست آمده از دئوکسی کورتیکوسترون (DOC) را تنظیم می‌کند که یک نقش مهم در تغییرات مربوط به استرس در کنترل تشنج دارد. DOC یک استروئید آدرنال می‌باشد که سنتز آن در طی استرس افزایش می‌یابد. کاهش سوخت‌وساز پی‌درپی به وسیله 5-reductase و 3-hydroxy oxidoreductas steroid به سمت 5-dihydrodeoxycorticosterone (DHDOC) و tetrahydrodeoxy corticosterone (THDOC) تنظیم می‌باشد که رسپتور  $GABA_A$  تنظیم کننده نورواستروئید همراه با خواص ضد تشنجی است [۱۸].

مطالعات Goldberg و salma نشان داد استرس‌هایی نظیر سنا، اثرات ضد تشنجی در حیوانات دارد که همسو با مطالعه حاضر می‌باشد [۲۱].

Reddy و همکاران نشان دادند استرس سنا در موش به طور واضح سطح THDOC پلاسما را افزایش می‌دهد و آستانه تشنج PTZ را بالا می‌برد. THDOC در انواع مدل‌های تشنج حیوانات اثرات ضد تشنجی دارد. از آنجایی که THDOC از DOC مشتق می‌شود می‌توان نتیجه گرفت که DOC خواص ضد تشنجی دارد. جداسازی و سنتز شیمیایی DOC نشان داده است این ماده به تنهایی اثر حفاظتی در برابر تشنج حاصل از PTZ در مدل حیوانی موش دارد. با این حال مکانیسم این عمل، مبهم باقی



شکل ۳- مقطع میکروسکوپی از لایه‌های مختلف لوب پیشانی جهت شمارش تعداد عروق خونی در گروه کنترل. (A)، گروه شم (B) و گروه تجربی (C). (بزرگنمایی ۴۰۰، رنگ آمیزی H&E فلش‌های سیاه رنگ نشان‌دهنده عروق خونی می‌باشند).

#### بحث

این تحقیق افزایش معنی‌دار آستانه تشنج در فرزندان که مادرانشان تحت استرس قرار گرفته بودند نسبت به گروهی که مادرانشان تحت استرس نبوده‌اند را نشان داد. کاهش معنی‌دار در بیشتر ضخامت لایه‌های لوب پیشانی در گروه تجربی نسبت به گروه‌های شاهد و شم نیز دیده شد. تعداد سلول‌های عصبی و گلیال در گروه تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شم کاهش معنی‌دار نشان داد. همچنین تعداد عروق خونی موجود در لایه‌های لوب پیشانی در گروه تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و شم کاهش معنی‌داری داشت.

در این تحقیق، آستانه تشنج نوزادان موش‌هایی که تحت استرس بارداری بودند بالاتر از آستانه تشنج نوزادان موش‌هایی بود که تحت استرس بارداری قرار نگرفته بودند. به عبارتی، استرس دوران بارداری سبب افزایش آستانه

را در گروه تجربی نشان داد. فعال‌سازی شبکه استرس در طول تکوین سیستم نورونی بسیار بحرانی است، در حالی که قرار گرفتن در معرض گلوکوکورتیکوئیدها می‌تواند به رشد مغز کمک کند و برای تکامل طبیعی مغز ضروری است [۲۲]. ارتباطات عصبی، مغز در حال رشد و تکوین را نسبت به هورمون‌های استرسی حساس می‌کند. فعل و انفعالات گلوکوکورتیکوئیدها و CRH (Corticotropin-releasing hormone) بین رسپتورهایشان محور HPA جنینی را تغییر می‌دهند. بررسی نتایج پس از تولد فرزندان نشان می‌دهد که هورمون‌های استرس، مورفولوژی و عملکرد و ساختمان لوب پیشانی را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۲۳].

محققین نشان دادند قرار گرفتن در معرض استرس بارداری باعث تغییر در مورفولوژی و تراکم عددی نورون‌های لوب پیشانی می‌شود. همچنین مشخص شد که در اثر این استرس حجم سلول‌ها کاهش یافته است که همسو با نتایج مطالعه حاضر در جهت کاهش مساحت سلول‌های عصبی و گلیال می‌باشد [۲۴].

طبق آزمایشات Junjua، مشاهده شد استرس ازدحامی منجر به کاهش اندازه سلول‌های عصبی می‌شود که با نتایج این مطالعه سازگار است. در تأیید این یافته، باید گفت که استرس سبب آسیب به سلول می‌شود [۲۵].

Junjua همچنین نشان داد استرس بی‌حرکتی مزمن، سبب کاهش معنی‌دار اندازه سلول‌ها می‌شود که هم راستا با نتایج مطالعه حاضر در جهت کاهش معنی‌دار ضخامت لایه‌ها می‌باشد. دلیل این امر می‌تواند کاهش فعالیت هسته و در نتیجه کاهش فعالیت‌های متابولیکی سلول

مانده است [۱۸]. نتایج مطالعه حاضر نیز با این نتایج سازگار است که در هنگام استرس بی‌حرکتی دوران بارداری، مقدار اندکی از DOC تولید شده و سطح THDOC و آستانه تشنج PTZ را افزایش داده است.

DOC همچنین سطح THDOC پلازما را افزایش می‌دهد و از موش در برابر PTZ محافظت می‌کند. DHDOC، مانند THDOC توسط GABA فعال، جریان کلر را در جریان نورون‌های مغز میسر می‌سازد و به طور مستقیم فعالیت‌های رسپتور  $GABA_A$  را راه‌اندازی کرده است که سازگار با نقش DHDOC در فعالیت‌های تشنجی DOC می‌باشد. DOC موجب تنظیم فعالیت‌های رسپتور  $GABA_A$  می‌شود که شامل THDOC و DHDOC می‌باشد [۱۸].

با توجه به دلایل ذکر شده شاید بتوان گفت که استرس، هم اثرات تحریکی و هم اثرات مهارتی بر تشنج القاء شده توسط PTZ دارد. با توجه به تأثیر استرس بر سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلف، در شرایط استرس چنین پیش‌بینی می‌گردد که وقتی عاملی مثل PTZ اثر تشنج‌زایی را اشباع می‌کند، اثرات تحریکی که استرس می‌تواند بر بروز تشنج داشته باشد (که احتمالاً قوی‌تر از اثر مهارتی آن هم هست) قبلاً توسط PTZ اشباع می‌شود و آنچه که برای عمل کردن باقی می‌ماند اثر مهارتی استرس بر بروز تشنج است، لذا احتمال می‌رود که استرس بی‌حرکتی در دوران بارداری مادر، اثرات تشنج‌زایی PTZ را در فرزندان مهار کند.

در مورد مطالعات بافتی، مطالعه حاضر کاهش ضخامت لایه‌ها، تعداد سلول‌های عصبی و گلیال و تعداد عرق خونی

از آنجایی که در این زمینه مطالعات مختصری صورت گرفته است کشف مکانیسم دقیق آن نیازمند مطالعات بیشتری در این زمینه می‌باشد که در مطالعه حاضر به دلیل کمبود بودجه لازم برای پیشبرد کار این امر میسر نگردید. لذا در مطالعات آتی می‌توان تأثیر استرس دوران بارداری را بر سایر قسمت‌های مغز فرزندان مورد بررسی قرار داد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد استرس دوران بارداری می‌تواند سبب افزایش آستانه تشنج فرزندان و نیز اختلال در روند تکوین و تغییرات هیستومورفومتریک در ساختار لوب پیشانی آنها شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل انجام پژوهش و تحقیق در مرکز علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) و آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال بوده است که بدینوسیله از این مراکز کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

باشد و نتایج این مطالعه نیز کاهش ضخامت لایه‌ها در لوب پیشانی در پی استرس دوران بارداری را تأیید می‌کند [۲۵].

Ulupinar و همکاران، ساخت و ایجاد سلول‌ها در دوران جنینی در اثر استرس بی‌حرکتی مادر را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق، تعداد سلول‌ها کاهش معنی‌داری را نشان داد و مشخص شد استرس دوران بارداری مورفولوژی و چگالی عددی نورون‌ها را تغییر می‌دهد که نتایج مطالعه حاضر در جهت کاهش تعداد و مساحت سلول‌های عصبی و گلیال لوب پیشانی را تأیید می‌کند [۲۶].

مطالعاتی که توسط Herlenius و همکارانش انجام گرفته نشان داده است که یکسری از نوروترانسمیترها و نورومودولاتورها قبل از تمایز سلول‌های عصبی در جنین ظاهر می‌شوند و در دوره جنینی می‌توانند بر روی تمایز و رشد نورون‌ها تأثیر بگذارند [۲۷]. با استناد به این مطالب استنباط می‌شود که کاهش جمعیت سلولی در گروه تجربی تحت تأثیر نوروترانسمیترها و نورومودولاتورهای است که قبل از تمایز سلول‌ها در جنین ظاهر می‌شوند و روی تعداد سلول‌ها تأثیرگذار می‌باشند.

## References

- [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, et al. 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* 2006; 7: 49.
- [8] Guesdon V, Meurisse M, Chesneau D, Picard S, Levy F, Chaillou E. Behavioral and endocrine evaluation of the stressfulness of single-pen housing compared to group-housing and social isolation conditions. *Physiol Behav* 2015; 147: 63-70.
- [9] Bell SM, Edwards SW. Identification and Prioritization of Relationships between Environmental Stressors and Adverse Human Health Impacts. *Environ Health Perspect* 2015; 123(11): 1193-9.
- [10] Tian R, Hou G, Li D, Yuan TF. A possible change process of inflammatory cytokines in the prolonged chronic stress and its ultimate implications for health. *Scientific World Journal* 2014; 2014: 780616.
- [11] Markham JA, Koenig JI. Prenatal stress: role in psychotic and depressive diseases. *Psychopharmacology (Berl)* 2011; 214(1):89-106.
- [12] Dorey R, Pierard C, Chauveau F, David V, Beracochea 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* 2009; 234(1): 117-27.
- [14] Habib KE, Gold PW, Chrousos GP. Neuroendocrinology of stress. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001; 30(3): 695-728; vii-viii.
- [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] Besunder JB, Blumer JL. Neonatal drug withdrawal syndromes. Marcel Dekker, Inc, New York, NY(USA). 1994; 2: 321-52.
- [18] Reddy DS, Rogawski MA. Stress-induced deoxycorticosterone-derived neurosteroids modulate GABA(A) receptor function and seizure susceptibility. *J Neurosci* 2002; 22(9): 3795-805.
- [19] Reddy DS. The clinical potentials of endogenous neurosteroids. *Drugs Today* 2002; 38(7): 465-85.
- [20] Reddy DS. Physiological role of adrenal deoxycorticosterone-derived neuroactive steroids in stress-sensitive conditions. *Neuroscience* 2006; 138(3): 911-20.
- [21] Goldberg ME, Salama AI. Effect of drum stress on maximal electroconvulsive seizure latency in mice. *Int J Neuropharmacol* 1969; 8(2): 161-7.
- [22] Trejo JL, Machin C, Arahuetes RM, Rua C. Influence of maternal adrenalectomy and glucocorticoid administration on the development of rat cerebral cortex. *Anat Embryol (Berl)* 1995; 192(1): 89-99.
- [23] Weinstock M. The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neurosci Biobehav Rev* 2008; 32(6): 1073-86.
- [24] Hosseini-Sharifabad M, Sabahi A. Stereological estimation of granule cell number and purkinje cell volume in the cerebellum of noise-exposed young rat. *Iran J Med Sci* 2014; 39(4): 387-90.
- [25] Junjua B, editor Effects of Acute Immobilization Stress on Vermal Cerebellar

- Cortex of Young Male Rats. *Medical Forum Monthly* 2008.
- [26] Ulupinar E, Yucel F, Ortug G. The effects of prenatal stress on the Purkinje cell neurogenesis. *Neurotoxicol Teratol* 2006; 28(1): 86-94.
- [27] Herlenius E, Lagercrantz H. Neurotransmitters and neuromodulators during early human development. *Early Hum Dev* 2001; 65(1): 21-37.
- [28] Ekstrand J, Hellsten J, Tingström A. Environmental enrichment, exercise and corticosterone affect endothelial cell proliferation in adult rat hippocampus and prefrontal cortex. *Neuroscience letters* 2008; 442(3): 203-7.
- [29] Katychev A, Wang X, Duffy A, Dore-Duffy P. Glucocorticoid-induced apoptosis in CNS microvascular pericytes. *Dev Neurosci* 2003; 25(6): 436-46.
- [30] Czeh 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.
- [31] 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; discussion 2.
- [32] Neigh GN, Gillespie CF, Nemeroff CB. The neurobiological toll of child abuse and neglect. *Trauma Violence Abuse* 2009; 10(4): 389-410.
- [33] 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.
- [34] Auerbach W, Auerbach R. Angiogenesis inhibition: a review. *Pharmacol Ther* 1994; 63(3): 265-311.

## The Effect of Maternal Prenatal Stress on Frontal Lobe Evolution and Evaluation of Seizure Threshold in NMRI Mice Offsprings

F. Hakimi<sup>۱</sup>, Gh. Kaka<sup>۲</sup>, M. Sadoughi<sup>۳</sup>

Received: 2/05/2017 Sent for Revision: 08/07/2017 Received Revised Manuscript: 29/11/2017 Accepted: 03/11/2017

**Background and Objectives:** Maternal prenatal stress while increasing the glucocorticoid level in the embryo, has detrimental effects on the neural structure. This study examined the effect of maternal stress on the change of the frontal lobe in mice during pregnancy and also the seizure threshold in their offsprings.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 30 pregnant female mice were divided into two equal groups: the non-stress group and stress group. The stress group experienced one hour immobilization stress for 14 days. After child birth, offsprings were divided into three groups (n=4): The control group, mothers received no immobilization stress and their offsprings also received no PTZ; the Sham group, mothers received no immobilization stress but their offsprings received PTZ; and the experimental group, mothers received immobilization stress and their offsprings also received PTZ. To study the frontal lobe of mouse embryo, the brain of mice offsprings were removed and fixed. The sections (5 micron) were prepared and stained by H&E technique. Histological studies were performed using the Histolab and Motic softwares.

**Results:** The results showed a significant increase in seizure threshold in the offsprings whose mothers were under immobilization stress compared with the offsprings whose mothers received no stress ( $p < 0.001$ ). A significant reduction in the thickness of layers was observed in the experimental group compared with the control and sham groups ( $p < 0.05$ ). The number of neural and glial cells and the number of blood vessels in the experimental group significantly decreased compared with the control and sham groups ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Immobilization stress during pregnancy can cause an increase in the seizure threshold in mice offsprings and a disorder in the development and structure of their frontal lobe.

**Keywords:** Frontal lobe, Seizure, Stress, Pentylentetrazole, Histomorphometry.

**Funding:** None declared.

**Conflict of interest:** The authors have no conflicts of interest.

**Ethical approval:** Approval for this experimental study was obtained from the Institutional Review Board, and all experiments were carried out in accordance with the Guidelines of Animal Care and Use of the Ethics Committee of Baqiyatallah University of Medical Sciences

**How to cite this article:** Hakimi F, Kaka Gh, Sadoughi M. The Effect of Maternal Prenatal Stress on Frontal Lobe Evolution and Evaluation of Seizure Threshold in NMRI Mice Offsprings. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2017; 16(9): 845-56. [Farsi]

1- MSc, Department of Animal Sciences, Faculty of Biological Sciences, North Branch, Islamic Azad University of Tehran, Tehran, Iran

2- Associate Prof., Neurosciences Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Corresponding Author) Tel: (021) 26127286, Fax: (021) 26127286, Email: gh\_kaka@yahoo.com

3- Prof., Dept. of Animal Sciences, Faculty of Biological Sciences, North Branch, Islamic Azad University of Tehran, Tehran, Iran