

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

الهام عنانات^۱، حمد الله دلاویز^۲، رضا محمودی^۳، امراة روزبهي^۴، علی میرزایی^۵، مهرزاد جعفری برمک^۶، پرستو راد^۷، مهسا ثروت خواه^۸،
فروغ مریدی کیا^۹

^۱ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۲ مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، 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 فعالیت های بیولوژیکی مغز نقش مهمی در کاهش استرس داد. امروزه استرس را بیماری قرن می دانند که مشکلات فراوانی را ایجاد کرده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات حمایتی آرژنین بر بافت مغز جنین های مادران تحت استرس بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۲۰ سر موش صحرایی بارداری 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 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به روش داخل صفاقی آرژنین دریافت کردند. گروه کنترل (تحت استرس) و شاهد (بدون استرس) دو میلی لیتر نرمال سالین دریافت کردند. سپس در روز ۲۰ بارداری موش های با کتامین (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش و پس از سزارین جنین ها 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 اندازه گیری میزان نیتریک اکساید استفاده شد. داده ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: نتایج نشان داد که میزان نیتریک اکساید در گروه تحت استرس با آرژنین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشت ($p < 0/05$). میانگین ضخامت قشر پیشین مغز و تشکیلات هیپوکامپ در گروه تحت استرس در مقایسه با گروه بدون استرس کاهش نشان داد ولی معنی داری نبود ($p > 0/05$). میانگین وزن جنین ها و حجم مغز آنها در گروه تحت استرس در مقایسه با گروه بدون استرس کاهش معنی داری داشت ($p < 0/05$).

نتیجه گیری: آرژنین با کاهش میزان استرس اکسیداتیو در مادران باردار تحت استرس می تواند از تغییرات مغز جنین ها و وزن آنها جلوگیری کند.

واژه های کلیدی: استرس، مغز جنین، آرژنین، موش بارداری، نیتریک اکساید

* نویسنده مسئول: حمد الله دلاویز، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی

Email: delavizhamdi83@gmail.com

مقدمه

تولید رادیکال‌های آزاد به خصوص در مغز شده و باعث واکنش‌های اکسایش لیپیدی می‌شوند. از آنجایی که در مغز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان وجود ندارد (۹-۱۲)، وجود رادیکال‌هایی از جمله سوپراکسید، هیدروکسیل، نیتریک اکسید و لیپید پراکسید می‌تواند برای مغز بسیار خطرناک باشد (۱۴ و ۱۳). امروزه برای درمان استرس از داروهایی مانند بنزودیازپین‌ها استفاده می‌شود، اثرگذاری این دارو شاهدهی 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 (۱۷-۱۵)، اما با پی بردن به عوارض رادیکال‌های آزاد در سال‌های اخیر و نقش آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند آرژنین، می‌توان بافت‌های بدن را در برابر این ساختارها حمایت نمود (۱۸).

آرژنین پیش‌ساز نیتریک اکساید است و جزو اسید آمینه‌های ضروری برای دوران جنینی می‌باشد. کاهش میزان سرمی آرژنین در نوزادان نارس، با اختلالات روده‌ای و قلبی - عروقی همراه است (۱۹). در دو ماه آخر جنینی با افزایش فعالیت در پایرویلین - 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

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 از غده هیپوفیز، کورتیزول و کاتکول آمین‌های از غده فوق کلیوی می‌شود. این تغییرات هورمونی ممکن است منجر به تغییرات رفتاری در موجود زنده شود (۲-۵). 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 نوروترانسمیترهایی نظیر دوپامین، سروتونین، گابا و نوراپی نفرین، افزایش میزان بتا- اندورفین و مت انکفالین از هیپوتالاموس می‌شود این روند باعث اختلال در رشد جنین می‌شود (۶ و ۷). بررسی‌ها نشان داده‌اند که استرس باعث اختلال در تکامل سلول‌های هیپوکامپ، کاهش خارهای دندریتی قشر پروفروننتال شده و در نتیجه دچار نقایص یادگیری در بزرگسالی می‌شود. استرس حتی از طریق پدر نیز در طول اسپرماتوژنیز بر روی الگوی متیلاسیون DNA در قسمت قشر پروفروننتال جنین تأثیر می‌گذارد (۸). استرس‌های فیزیکی و روانی مثل بی‌حرکتی، منجر به

کاهش عوارض استرس بروی جنین های 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 ۲۵۰-۲۰۰ گرم خریداری و به مدت یک هفته برای تطابق با محیط، در حیوان خانه دانشکده علوم پزشکی یاسوج نگهداری شدند. جهت بارداری موش ها، یک جفت موش صحرایی نر و ماده در ساعت ۸ شب در کنار هم در قفس قرار گرفتند. صبح روز بعد با مشاهده پلاک واژینال روز صفر بارداری برای حیوان در نظر گرفته شد. سپس موش های باردار به چهار گروه تقسیم بندی شدند. به گروه کنترل و شاهد به ترتیب با و بدون استرس دو میلی لیتر سرم فیزیولوژیک به صورت داخل صفاقی تزریق شد. گروه های درمانی با و بدون استرس آرژنین را به میزان ۲۰۰ میلی گرم 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 سانتی متر و ارتفاع ۵/۵ سانتی متر و چهار منفذ در سطح و کف محفظه تعبیه شد (شکل ۱). حیوانات از طریق این منافذ اکسیژن و آب دریافت می کردند، 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

اطراف پورتال به اوره و اورنیتین تبدیل شده و قسمت کوچکی از آن تبدیل به نیتریک اکساید می شود (۲۲-۲۰). نیتریک اکساید در روز ۱۰ جنینی و بعد از تولد بیان می شوند، ولی در روز ۱۷ جنینی نیز کاهش در بیان آن وجود دارد (۲۳). نیتریک اکساید سنتتاز آنزیم تبدیل کننده آرژنین به نیتریک اکساید می باشد و برای تولید آن از مولکول اکسیژن، نیکوتین - آدنین دی نوکلئوتید فسفات و کوفاکتورهای دیگر استفاده می کند نیتریک اکساید سنتتاز دارای سه ایزو فرم اندوتلیال، نورال و ایندیوسسیل می باشد (۲۴ و ۲۵). ایزو فرم اندوتلیالی در سلول های اندوتلیال به صورت متصل به غشای پلاسمایی دیده می شود. عمل این آنزیم باعث گشادای عروق می شود (۲۶ و ۲۷). در سلول های عصبی و گلیال از طریق اثرات طولانی مدت بر سیستم اعصاب مرکزی، در تنظیم جریان خون عروق مغزی، حافظه و یادگیری دخالت دارد (۲۸ و ۲۹). نیتریک اکساید با گیرنده های (N-Methyl-D-aspartic Acid) NMDA واکنش داده و از ورود کلسیم بیش از حد به سیتوزول سلولی جلوگیری می کند (۳۰). با این حال خود مولکول نیتریک اکساید می تواند باعث افزایش ورود کلسیم شده که در نتیجه منجر به اثرات سمی بر روی سلول می شود (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

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 ۱۰ درصد، بافت‌ها با دستگاه کرایومیکروتوم در برودت ۲۰- درجه سانتی‌گراد با مقاطع ۱۰ میکرومتر مقطعی 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 آماري آنالیز واریانس یکطرفه تجزیه و تحلیل شد.

می‌دهد، ۵ ساعت پس از آخرین تزریق، در روز ۲۰ بارداری مادران به وسیله کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) عمیقاً بیهوش و سزارین شدند، جنین‌ها خارج و سپس با ترازوی آزمایشگاهی دیجیتالی (با تخمین ۰/۰۲) 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 قرائت گردید. استاندارد مورد استفاده سدیم نیتريت ۱ میلی‌مول بود که غلظت‌های آن ۱۰ تا ۱۰۰ میکرومول مورد استفاده قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری حجم مغز از قانون ارشمیدس استفاده شد، بدین صورت که در ظرف



شکل ۱: جعبه استرس

یافته‌ها

بر اساس نمودار ۳ میانگین میزان حجم مغز

جنین‌های گروه تحت استرس با آرژنین (۰/۱۸۷۸ ± ۰/۲۹۲۳) در مقایسه با گروه کنترل (۰/۱۲۱۹ ± ۰/۲۴۷۰) افزایش نشان داد، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود. میانگین حجم مغز جنین‌های گروه بدون استرس با آرژنین (۰/۱۲۲۸ ± ۰/۳۴۵۰) در مقایسه با گروه جنین‌های شاهد (۰/۳۲۹۸ ± ۰/۰۹۳۷) 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 (۲۰/۲۶۵ ± ۲۰/۱۰۶۵) در مقایسه با گروه کنترل (۶۲/۲۹۰ ± ۰۵/۱۰۰۷) افزایش نشان داد، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود و گروه بدون استرس با آرژنین (۹۵/۳۳۹ ± ۸۰/۱۱۱۹) در مقایسه با گروه شاهد (۰۲/۳۶۲ ± ۸۴/۱۰۹۰) مقداری افزایش نشان داد ولی رابطه معنی‌داری نشان نداد (شکل ۲).

میانگین ضخامت تشکیلات هیپوکامپ گروه

تحت استرس با آرژنین (۳۱/۳۵ ± ۹۷/۲۸۵) در مقایسه با گروه کنترل (۶۶/۴۸ ± ۹۷/۲۴۵) افزایش نشان داد، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود (نمودار ۵). گروه بدون استرس با آرژنین (۷۴/۴۵ ± ۵۱/۳۱۸) در مقایسه با گروه شاهد (۱۸/۳۸ ± ۶۶/۲۹۵) اندکی افزایش نشان داد ولی رابطه معنی‌داری نشان نداد (شکل ۳ نمونه

بر اساس نمودار ۱ میانگین میزان نیتریک

اکساید مغز جنین‌های گروه تحت استرس با آرژنین (۰/۹۱۷۱ ± ۴۲/۰۹۱۷۱) در مقایسه با گروه کنترل (۲۰۵۰/۱۱۳ ± ۲۹۶/۸۰) کاهش نشان داد و همچنین میانگین نیتریک اکساید مغز جنین‌های گروه بدون استرس با آرژنین (۰/۲۲۸۰ ± ۳۷/۱۰۲۹۵۷۵) در مقایسه با گروه جنین‌های شاهد (۸۶۲۸۶/۵۷ ± 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 (۲۷/۳ ± ۴۷/۳) در مقایسه با گروه کنترل (۴۱/۰ ± ۹۷/۲) افزایش نشان داد، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود (p > ۰/۰۵).

همچنین میانگین وزن جنین‌های گروه بدون استرس با

آرژنین (۱۲/۸۱ ± ۵/۸۱) در مقایسه با گروه کنترل (۴۱/۰ ± ۹۷/۲) 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

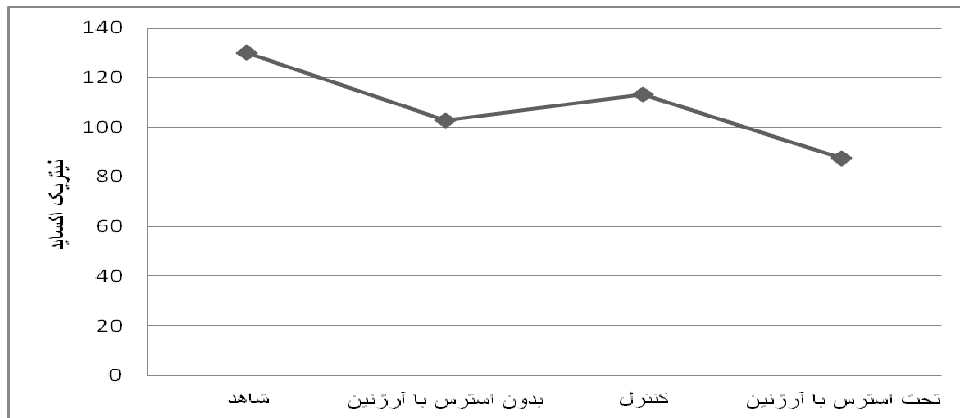
استرس با آرژنین افزایش معنی‌دار نشان

داد (p < ۰/۰۵)، همچنین گروه شاهد (۵۷/۰ ± ۵۳/۴) در

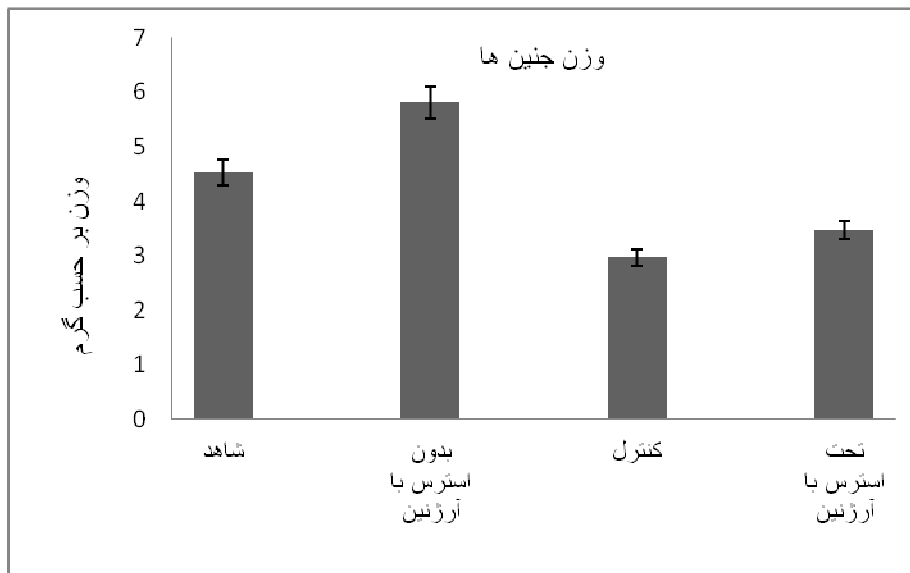
مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری

داشت (p < ۰/۰۵).

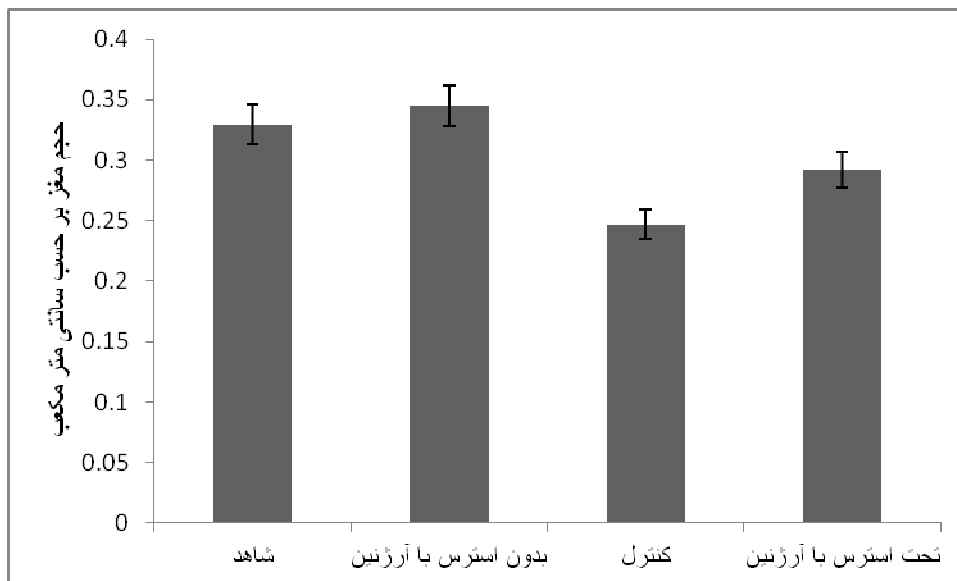
بافت‌های گرفته شده از ضخامت هیپوکامپ جنین‌ها) ($p > 0.05$).



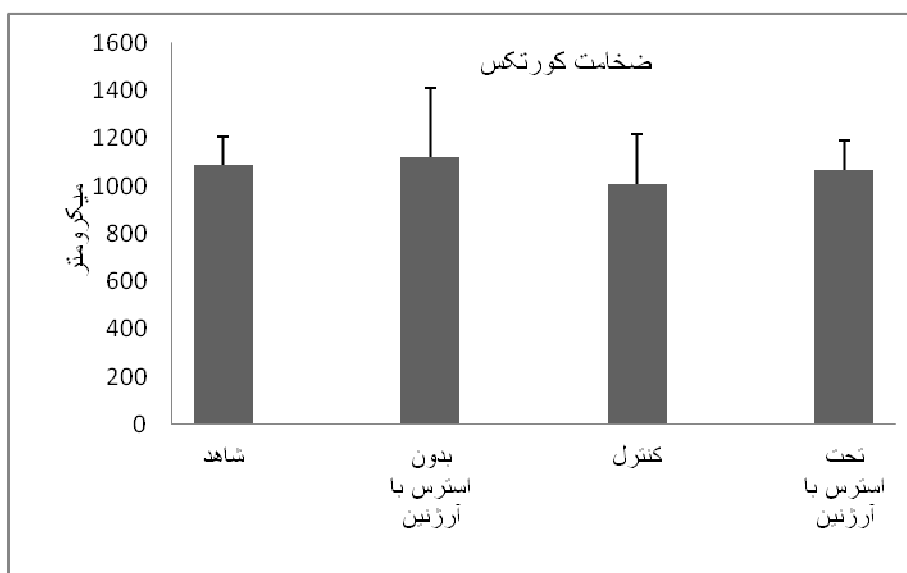
نمودار ۱: میزان نیتریک اکساید بافت مغز جنین‌ها در گروه‌های مورد مطالعه



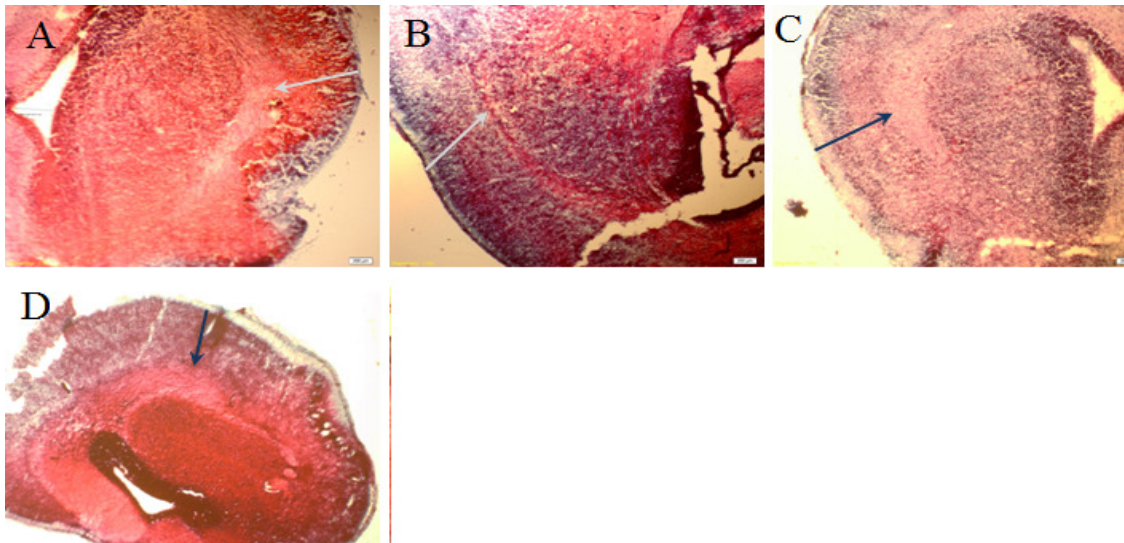
نمودار ۲: تغییرات وزن جنین‌های گروه‌ها مورد مطالعه



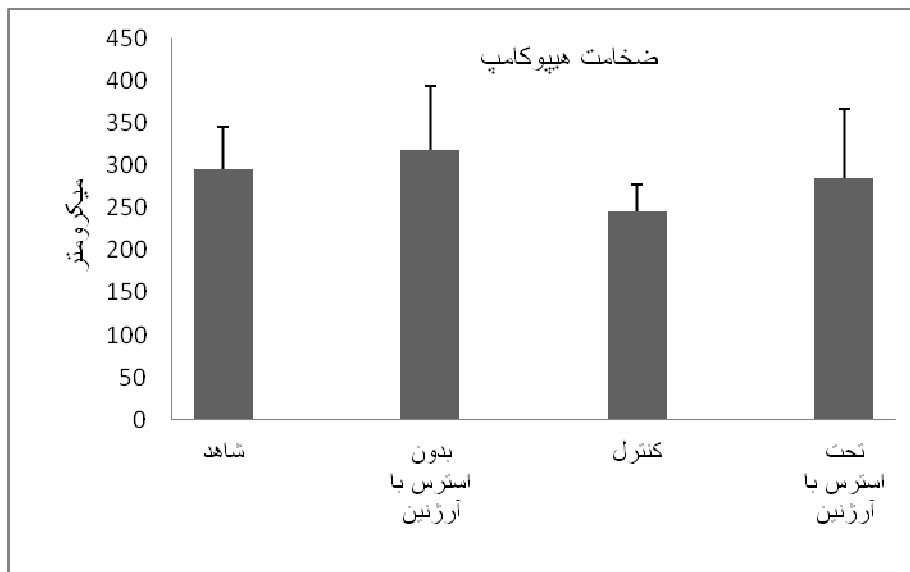
نمودار ۳: میزان حجم بافت مغز جنین‌ها در گروه‌های مورد مطالعه



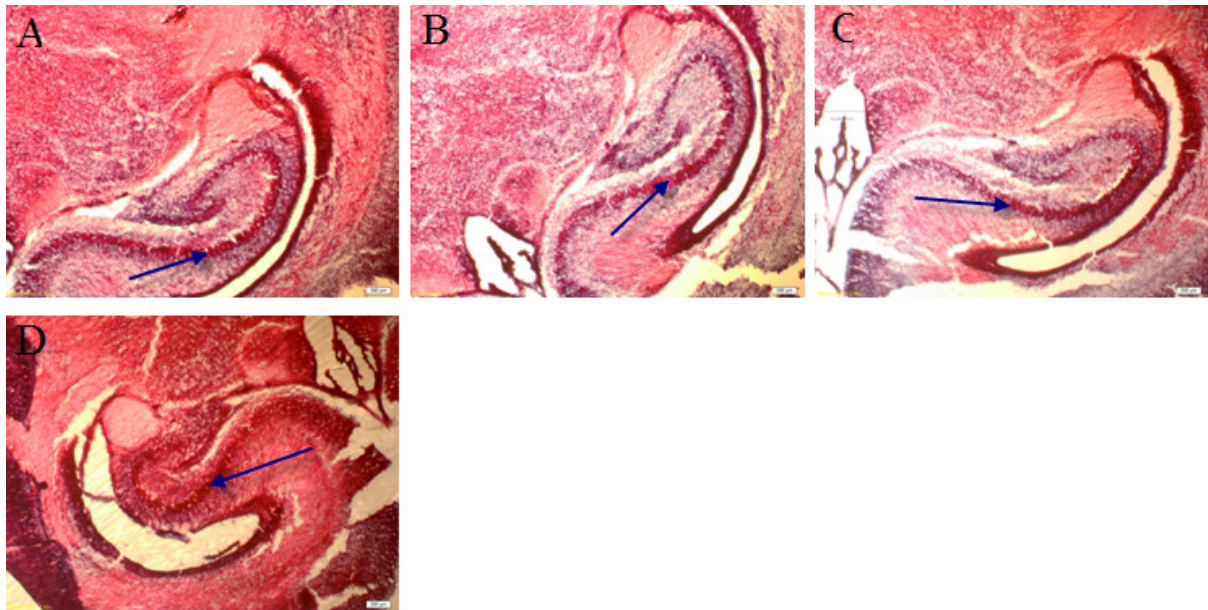
جدول ۴: میانگین ضخامت قشر پیشین مغز جنین‌های مورد مطالعه



شکل ۲: مقاطع بافتی از ضخامت قشرپیش مغز(فلاش): تصویر A گروه شاهد، تصویر B گروه بدون استرس با آرژنین، تصویر C گروه کنترل، تصویر D گروه تحت استرس با آرژنین(با بزرگنمایی لنز شیئی ۴x با رنگ آمیزی ماسون تری کروم)



نمودار ۵: میانگین ضخامت تشکیلات هیپوکامپ در گروه‌های مورد مطالعه



شکل ۳: مقاطع بافتی از ضخامت تشکیلات هیپوکامپ (فلاش): تصویر A گروه شاهد، تصویر B گروه بدون استرس با آرژنین، تصویر C گروه کنترل، تصویر D گروه تحت استرس با آرژنین با بزرگنمایی لنز شیئی ۴x با رنگ آمیزی ماسون تری کروم

بحث

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 (۳۲-۳۴)، 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 مادر می‌شود و می‌تواند از عوارض ناشی از استرس بر جنین‌ها جلوگیری نماید.

رادیكال‌های آزاد به عنوان مولكول‌هایی تعريف می‌شوند كه دارای يك تك الكترون جفت نشده بر روی اتم‌های خود هستند و می‌توانند به بافت‌ها آسیب برسانند. آنتی‌اکسیدان‌ها مکانیسم‌های دفاعی مقابله کننده با رادیكال‌های آزاد می‌باشند كه 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 كه میزان وزن گروه‌های تحت استرس، نسبت به گروه‌های بدون استرس کاهش داشته است. به دلیل این‌كه اعمال استرس در دوره بارداری می‌تواند میزان خون جفت را کاهش دهد و باعث کاهش مواد مورد نیاز رشد جنین و در نهایت کاهش وزن جنین شود (۶ و ۷).

در مطالعه اخیر میزان نیتریک اکساید بافت مغزی در گروه‌های تحت استرس، در مقایسه با گروه‌های بدون استرس کاهش نشان داده بود. از آنجایی که در دوره‌های پایان بارداری میزان هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی در خون 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 - عروقی و مشکلات تنفسی و اختلالات روده‌ای 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 اگزوزن 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

رودن 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 آمینه 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 آنجایی که متابولیسم آرژنین در کودکان و بزرگسالان از طریق کلیه بوده و با نوزادان 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 گروه‌های 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

توجیه نماید. در بررسی انجام شده مشاهده شد که میزان ضخامت هیپوکامپ و قشر پیش مغز در گروه هایی که آرژنین می گرفتند، در مقایسه با گروه شاهد (بدون استرس با نرمال سالین) و کنترل (تحت استرس با نرمال سالین) افزایش دارد. آرژنین با عملکرد آنتی اکسیدانی خود و از طرفی ترکیب های نمکی خود می تواند با گیرنده های گلوکوکورتیکوئیدی ترکیب شود و از تأثیر بیشتر این هورمون ها جلوگیری کند (۵۰) و همچنین با توجه به مکانیسم هورمون های 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 می توان گفت که آرژنین در دوران استرس مادر می تواند از شدت عوارض کم نماید.

نتیجه گیری

یافته های پژوهش حاضر نشان داد که آرژنین به عنوان یک آنتی اکسیدان می تواند در شرایط پر استرس مادران باردار، با تنظیم هموستاز بدن جنین و حذف رادیکال های آزاد حاصله، شرایط پایدارتری برای جنین ها ایجاد کند و باعث افزایش وزن جنین ها، افزایش حجم مغز و افزایش ضخامت مغز در گروه های تحت استرس شود. میزان مصرف نیتریک اکساید حاصله از آرژنین و کاهش سطوح آن در گروه های مورد آزمایش و همچنین افزایش وزن و حجم مغزی در گروه های مربوطه نشان دهنده تأثیرات

رشد باعث کاهش حجم در قسمت های مختلف مغز می شوند (۴۳). بعضی از داروها با تأثیر بر مغز می توانند در تغییرات حجم مغز دخیل باشند از جمله در مطالعه موهان و همکاران و همچنین نیلی سیلوا با تأثیر لاموتریژین بر روی مغز جنین های موش انجام داده بودند نشان دادند که این دارو باعث افزایش حجم مغز در جنین های تحت آزمایش شده بود (۴۴ و ۱۸).

در بررسی انجام شده ضخامت قشر پیش مغز و تشکیلات هیپوکامپ گروه تحت استرس در مقایسه با گروه های بدون استرس کاهش نشان داد. استرس می تواند با تأثیر روی محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - غده آدرنال باعث افزایش سطوح کورتیکواستروئیدی شود و این هورمون ها از طریق گیرنده هایی که در سراسر مغز حضور دارند از جمله در قشر پروفرونتال و هیپوکامپ باعث اختلال در تکامل سلول های این نواحی، کاهش خارهای دندریتی آنها شده و در نتیجه تبادلات سلولی کاهش می یابد و به دنبال آن مرگ سلولی اتفاق می افتد (۴۵). به خصوص در جنین، سلول های اجدادی مغز دارای که گیرنده های فراوانی از این نوع بوده، بیشترین تأثیر را می پذیرند (۵۰). همچنین استرس منجر به تولید رادیکال های آزاد از جمله سوپراکسید هیدروکسیل و لیپید پراکسیل (۴۵ و ۴۶) به خصوص در مغز می شود و به دنبال آن واکنش های اکسایش لیپیدی را ایجاد می کند. عدم حضور آنزیم های آنتی اکسیدان در مغز می تواند برای مغز بسیار خطرناک باشد (۴۹-۴۶) و می تواند کاهش ضخامت را در گروه های تحت استرس

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.

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. Eglinton 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 to repeated stressors: toward an animal model of chronic stress 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 mechanisms). *J comp Neurol* 1982; 206(1): 9-16.
8. Mychasiuk R, Harker A, Illytsky 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 lipid peroxidation of gerbil cerebral cortex as compared with rat. *Neurosci Lett* 1986; 67: 63-7.
10. Matsumoto K, Yobimoto K, Huong NT, Abdel-Fattah M, Van Hien T, Watanabe H. Psychological stress-induced enhancement of brain lipid peroxidation via nitric oxide system and its modulation by anxiolytic 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 J* 1998; 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 Chinese 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-N₂]-arginine to N-labeled nitrate by gas chromatography-mass

- spectrometry. Nitric Oxide. 2004; 11(1): 1-8.
22. Wu G, Jaeger LA, Bazerb FW, Rhoads JM. Arginine deficiency in preterm infants: biochemical mechanisms and 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 Regeneration 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.

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. *Neurosci 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.

Protective effects of arginine on fetal brain under maternal immobilization stress

Enanat E¹, Delaviz H^{2*}, Mahmoudi R², Jafari Barmak M², Roozbehi A², Mirzaei A³, Rad P⁴, Servatkah M¹, Moreidikia F¹

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

Received: 17 Sep 2014 Accepted: 1 Mar 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 hippocampal 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, Cellular 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.