بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی پروپولیس ایرانی بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو مغز جنین موش‌های صحرایی تحت استرس مزمن پره‌ناتال

حمیدرضا ثامنی[۱](Ph.D)، فاطمه کواکبیان[۱*](M.Sc)، محمدحسن تبریزی امجد[۱](M.Sc)، احمدرضا بندگی[۲](Ph.D)، بهپور یوسفی[۱](Ph.D)، عباس‌علی طاهریان[۳](M.D)

۱- *دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، گروه علوم تشریح*

۲- *دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، گروه بیوشیمی*

۳- *دانشگاه علوم پزشکی سمنان، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، گروه علوم تشریح*

چکیده

سابقه و هدف: استرس‌های پره‌ناتال دارای اثرات گوناگونی بر ویژگی‌های ساختاری و سیستم آنتی‌اکسیدانی جنین بوده و اختلالاتی را در تنظیم محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال ایجاد می‌کنند. پروپولیس یکی از قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی پروپولیس ایرانی بر میزان شاخص‌های استرس اکسیداتیو ناشی از استرس محدودیت حرکتی پره‌ناتال در مغز جنین موش‌های صحراییبود.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی ماده باردار از نژاد ویستار، به ۶ گروه تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه بدون استرس + حلال پروپولیس، گروه استرس + حلال پروپولیس، گروه استرس + پروپولیس با دوز mg/kg ۵۰، گروه استرس + پروپولیس با دوز mg/kg ۱۰۰ و گروه استرس + پروپولیس با دوز mg/kg ۲۰۰. در گروه‌های سوم تا ششم، استرس محدودیت حرکتی به میزان ۶ ساعت در روز، از روز ۱۲ تا ۲۰ بارداری اعمال گردید. در روز ۲۱ بارداری پس از خون‌گیری و خارج نمودن مغز جنین‌ها، سطح کورتیکوسترون خون و میزان شاخص‌هایMDA (مالون‌دی‌آلدئید)، قدرت‌آنتی‌اکسیدانی تام (FRAP)، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) مغز اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها:استرس مزمن پره‌ناتال باعث افزایش معنی‌دار سطح کورتیکوسترون خون و میزان شاخص استرس اکسیداتیوMDA و کاهش معنی‌دار میزانFRAP، SOD و GPx در بافت مغز جنین‌های۲۱ روزه نسبت به گروه کنترل می‌شود. درمان موش‌های باردار تحت استرس مزمن با عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی، به‌طور معنی‌داری سطح کورتیکوسترون خون و MDA مغز را کاهش و هم‌چنین میزانFRAP، SOD و GPx را در بافت مغز جنین‌ها افزایش داد.

نتیجه‌گیری:نتایج ما نشان داد که پروپولیس ایرانی قادر است از افزایش کورتیکوسترون خون وMDA مغز و کاهش عوامل آنتی‌اکسیدانیSOD، FRAP وGPx بافت مغز در شرایط استرس مزمن دوران پره‌ناتال جلوگیری کند.

واژه‌های کلیدی: پروپولیس، استرس پره‌ناتال، استرس اکسیداتیو، مغز جنین، موش صحرایی

مقدمه

استرس عبارت از هر واقعه‌ی تهدیدکننده‌ای است که باعث بروز پاسخ‌های رفتاری و فیزیولوژیک در فرد شود و دارای تعاریف مختلفی در زمینه‌های علوم رفتاری، روان‌شناسی و فیزیولوژی می‌باشد [۱]. استرس‌های پره‌ناتال با بسیاری از ناهنجاری‌های روانی، رفتاری و شناختی در انسانو

* نویسنده مسئول، تلفن:۰۲۳-۳۳۳۵۴۲۱۸ نمابر:۰۲۳-۳۳۳۵۴۱۷۷

Email: hrsameni@gmail.com

تاریخ دریافت:۱۳۹۲/۷/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۳۰

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

حیوانات در ارتباط می‌باشند. این ناهنجاری‌ها به صورت بیماری‌هایی در دوران کودکی و بزرگ‌سالی مثل شیزوفرنی، اوتیسم، بیش‌فعالی، ناهنجاری‌های ساختاری و عملکردی اندام‌های بدن و اختلال در یادگیری و حافظه بروز می‌کنند [۲]. از انواع استرس که در تجربیات آزمایش‌گاهی به کار می‌رود، می‌توان به استرس فیزیولوژیکی مانند سرما (هیپوترمی) و شنا در آب سرد، استرس سایکولوژیکی مانند محدودیت حرکتی و استرس سایکوفیزیولوژیکی چون شوک کف پا اشاره نمود [۳].

در شرایط استرسی دو سیستم در بدن فعال می‌شوند: یکی سیستم سمپاتو- آدرنو- مدولار است که به سرعت در هنگام استرس فعال شده و باعث افزایش کاتکول‌آمین‌ها (اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین) در خون می‌شود و دیگری محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال (HPA) می‌باشد که باعث آزادسازی گلوکوکورتیکوئیدها (کورتیکوسترون در جوندگان و کورتیزول در انسان) از قشر آدرنال می‌گردد[۴]. کورتیکوستروئیدها به سبب داشتن ساختمان لیپوفیل به راحتی می‌توانند از سد خونی- مغزی عبور کرده و پس از ورود به بافت مغز به گیرنده‌های خود متصل شوند [۶-۴]. گلوکوکورتیکوئیدها دو نوع گیرنده به نام گیرنده‌های مینرالوکورتیکوئیدی (MR) و گلوکوکورتیکوئیدی (GR) دارند. گیرنده‌هایMR، تمایل بالایی برای کورتیکوسترون و کورتیزول دارند و تعداد آن‌ها در مغز بیش‌تر است، در حالی که گیرنده‌هایGR، تمایل کم‌تری به کورتیزول داشته و در تمام نواحی مغز پراکنده هستند [۱۰-۷].

تحت شرایط طبیعی، میزان دسترسی جنین به گلوکوکورتیکوئیدهای مادر به دلیل وجود آنزیمی به نام آنزیم مهارکننده‌ی گلوکوکورتیکوئید (۱۱-هیدروکسی استروئید دهیدروژناز،HSD-۱۱) کم است. مواجهه‌ی تکرارشونده با استرس پره‌ناتال منجر به کاهش فعالیتHSD-۱۱و هم‌چنین تغییر در فنوتیپ جفت و بنابراین افزایش دسترسی جنین به کورتیکوسترون مادری می‌شود [۱۱،۲]. ترشح بیش از حد گلوکوکورتیکوئیدها در خون توسط فعالیت محور HPA به دنبال استرس، باعث ایجاد استرس اکسیداتیو سلولی می‌شود [۱۲]. در استرس اکسیداتیو، سطح بالا و غیرطبیعی ROS (Reactive oxygen species)، مثل رادیکال‌های آزاد (هیدروکسیل، نیتریت‌اکسید، سوپراکسید) یا غیررادیکال H2O2 و پراکسیدلیپید)، می‌توانند به مولکول‌های خاص و اجزای تشکیل‌دهنده‌ی سلول نظیر لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها آسیب وارد کرده و منجر به مرگ سلولی به صورت نکروز و آپوپتوز شوند. به دنبال پراکسیداسیون لیپیدی توسط رادیکال‌های آزاد در بافت، ترکیبات حد واسطی مانند مالون‌دی‌آلدئید (Malondialdehyde, MDA) در سلول ایجاد شده که مشخصه‌ی اصلی این فرآیند می‌باشد. به طور طبیعی در سلول‌ها آنزیم‌هایی مانند: سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase, SOD)، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز (Glutathione peroxidase, GPx) و گلوتاتیون ردوکتاز (Glutathione reductase, GR) وجود دارند که مسئول دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها می‌باشند [۱۳]. از آن‌جایی که مغز عضوی با میزان مصرف اکسیژن زیاد، ذخایر لیپیدی فراوان و نیز حاوی میزان زیادی اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد و از طرف دیگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن نیز کم است، بنابر این استرس‌های اکسیداتیو می‌توانند منشأ بسیاری از آسیب‌های حاد هیستوپاتولوژیک در این عضو بسیار حساس باشند [۱۴].

در بسیاری از مطالعات حیوانی نشان داده شده است که استرس پره‌ناتال بر مغززاده‌ها تأثیر زیادی می‌گذارد. از جمله نواحی از مغز که تحت تأثیر این استرس‌ها دچار تغییرات و ناهنجاری می‌شوند شامل؛ هیپوکمپ (کاهش تا ۳۰ درصد در حجم هیپوکمپ و اختلال در حافظه و یادگیری)، رابط قدامی (کاهش در میزان تراکم ماده‌ی سفید)، آمیگدال (کاهش حجم هسته‌های ناحیه‌ی آمیگدال و اختلال در حافظه و احساسات)، کورپوس کالوزوم (کاهش منطقه‌ی کورپوس کالوزوم مغز و ایجاد بیماری‌هایی از قبیل شیزوفرنی و اوتیسم)، قشر مغز (کاهش تعداد خارهای دندریتی در دندریت‌های نورون‌های هرمی قشر و اختلال در یادگیری زبان)، مخچه (کاهش نسبت

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

سلول‌های دانه‌دار به سلول‌های پورکنژ و ایجاد بیماری‌هایی مثل بیش‌فعالی و اختلالات رفتاری) و هیپوتالاموس (تغییر در حجم هسته‌های هیپوتالاموس) و غیره می‌باشند [۱۶،۱۵،۱۱،۲،۱].

پروپولیس (بره موم) یک محصول طبیعی صمغی شکل از رزین‌های گیاهی است که از جوانه‌ها، برگ‌ها و دیگر بخش‌های گیاهانی مثل سپیدار، کاج، صنوبر و ... ترشح شده و توسط زنبور عسل جمع‌آوری می‌گردد، سپس زنبورها به آن موم و دیگر ترشحات خود را اضافه می‌کنند. مطالعات بسیاری فعالیت‌های بیولوژیکی و دارویی شامل اثرات ضد سرطانی، ضد التهابی، ضد باکتری، ضد توموری، ضد ویروسی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن را تأیید کرده‌اند که این ویژگی‌ها را به ترکیبات شیمیایی متنوع آن نسبت می‌دهند [۲۳-۱۲،۱۷]. پروپولیسیکی از قدرتمندترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و در بین محصولات زنبور عسل می‌باشد. این اثر عمدتاً به علت غلظت بالای فلاونوئیدها و فنولیک‌ها می‌باشد که مهم‌ترین ترکیبات فعال دارویی در پروپولیس هستند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده‌ی عصاره‌ی پروپولیس در واحدهای ORAC (ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن) ۴ برابر بیش‌تر از ویتامین E می‌باشد [۱۹].

همان‌طور که گفته شد بسیاری از ناهنجاری‌های دوره‌ی پس از تولد و بزرگ‌سالی ناشی از استرس‌های مختلفی است که در دوران جنینی روی داده است. بنابراینیافتن داروهایی که بتوانند اثرات مخرب این استرس‌های مزمن را بر بافت‌های بدن به‌ویژه مغز مهار نمایند، اهمیت فوق‌العاده زیادی دارند. با توجه به نقش بسیار گسترده بخش‌های مختلف مغز در کنترل اعمال حیاتی بدن و هم‌چنین خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی پروپولیس، هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثرات حفاظتی عصاره‌ی هیدروالکلی پروپولیس ایرانی بر تغییرات شاخص‌های استرس اکسیداتیو ناشی از استرس محدودیت حرکتی پره‌ناتال در مغز جنین موش‌های صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد مطالعه. برای انجام این مطالعه، تعداد ۴۸ سر موش سفید بزرگ آزمایش‌گاهی ماده بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰ ± ۲۰۰ گرم از کلونی حیوانات حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی تهران خریداری شد. موش‌ها به مدت دو هفته در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۵۵-۴۵درصد، دمای ۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد و دسترسی کافی و آزاد به آب و غذا در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی سمنان نگه‌داری شدند. تمام مراحل کار با حیوانات بر اساس دستورالعمل کمیته اخلاق و حمایت از حیوانات آزمایش‌گاهی انجام شد.

نحوه‌ی آماده‌سازی و گروه‌بندی حیوانات. پس از سازگاری حیوانات با محیط، هر موش ماده به طور جداگانه در یک قفس هم‌راه با یک موش نر به مدت یک شب قرار داده شد. صبح روز بعد با مشاهده‌ی پلاک واژینال و تهیه اسمیر از واژن جهت مشاهده‌ی اسپرم، روز صفر حاملگی مشخص و رت‌های نر از قفس خارج شدند. در روز دوازدهم بارداری، حیوانات باردار به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند (۸-۶ سر موش باردار در هر گروه). ۱- گروه بدون استرس و بدون تزریق، ۲- گروه بدون استرس هم‌راه با تزریق حلال پروپولیس، ۳- گروه تحت استرس هم‌راه با تزریق حلال پروپولیس، ۴- گروه تحت استرس که mg/kg ۵۰عصاره پروپولیس دریافت کردند، ۵- گروه تحت استرس که mg/kg ۱۰۰عصاره پروپولیس دریافت کردند، ۶- گروه تحت استرس که mg/kg ۲۰۰عصاره پروپولیس دریافت کردند.

روش اعمال استرس پره‌ناتال. حیوانات در گروه‌های اول و دوم، هیچ‌گونه استرسی دریافت نکردند و آب و غذای کافی در اختیار داشتند. در گروه‌های سوم تا ششم، حیوانات باردار از روز ۱۲ تا ۲۰ بارداری، روزانه به مدت ۶ ساعت (از ساعت ۸ تا ۱۴) تحت استرس محدودیت حرکتی (در داخل مقیدکننده رت از جنس P.V.Cبا ابعاد ۶×۶×۲۱ و به شکل نیم استوانه‌ای قابل تنظیم) قرار گرفتند [۲۴].

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

نحوه‌ی آماده‌سازی و تزریق عصاره‌ی پروپولیس. پروپولیس مورد استفاده در این تحقیق از کندوهای زنبور عسل واقع در نواحی شمالی استان سمنان جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها در اسرع وقت به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده پزشکی منتقل و تا زمان عصاره‌گیری در داخل یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. عصاره‌ی آبی- الکلی پروپولیس هر هفته به صورت تازه تهیه گردید. به این ترتیب که ابتدا قطعات بزرگ بره موم به قطعات ریز خرد شده سپس مقدار ۲۵ گرم از آن در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰درصد در یک ظرف دربسته و در دمای۴۲°C به مدت ۴۸ ساعت روی دستگاه شیکر قرار گرفت. سپس محلول حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره‌ی ۱، در دمای اتاق فیلتر گردید. عصاره‌ی آماده شده برای تهیه پودر خالص آن در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت قرار داده شد. سپس پودر خالص به‌دست آمده جهت تهیه دوزهای مختلف مورد استفاده در این مطالعه با الکل ۱۰درصد رقیق گردید و تا زمان استفاده در ظرف شیشه‌ای تیره‌رنگ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. در گروه‌های تجربی چهارم، پنجم و ششم به صورت روزانه و به مدت ۹ روز (از روز ۱۲ تا ۲۰ حاملگی) حدود نیم ساعت قبل از اعمال استرس عصاره پروپولیس با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد [۲۵].

نحوه‌ی تهیه نمونه خون و بافت مغز. در آخرین روز بارداری (روز ۲۱) مادران باردار با تزریق داخل صفاقی کتامین/زایلازین بی‌هوش شده و یک میلی‌لیتر خون از قلب حیوان جهت سنجش میزان کورتیکوسترون گرفته شد، سپس جنین‌ها از رحم مادر خارج شدند. پس از کشتن جنین‌ها، مغز آن‌ها خارج و توزین شد. نیمی از مغزها جهت بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدان، بلافاصله در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد فریز گردید. نیمی دیگر جهت بررسی‌های بافت‌شناسی در فرمالین نمکی ۱۰درصد ثابت شدند و پس از انجام مراحل آماده‌سازی بافت و قالب‌گیری، برش‌های ۵ میکرونی از آن‌ها تهیه و با روش هماتوکسیلن- ائوزین رنگ‌آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری مطالعه شدند.

روش ایمنواسی برای سنجش کورتیکوسترون:

برای تعیین میزان کورتیکوسترون سرم خون از روش ایمنواسی استفاده شد. به این ترتیب که نمونه خون تهیه شده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. سپس سرم جدا و تا زمان اندازه‌گیری کورتیکوسترون در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. جهت سنجش سطح کورتیکوسترون خون از کیت رادیوایمنواسی (Corticosterone, ELISA, DRG, Marburg, Germany) استفاده گردید [۲۶].

روش سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدان. اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدئید(MDA)

۱/۵میلی‌لیتر اسیدفسفوریک ۱درصد + ۰/۵ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک (TBA) ۰/۶درصد + ۲۵۰میکرولیتر از نمونه را مخلوط کرده در بن‌ماری جوش به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شد. بعد از سرد کردن، ۴ میلی‌لیترn بوتانول اضافه شده و تکان داده شد و با دورg ۳۰۰۰به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ گردید و محلول رویی آن جدا و مورد استفاده قرار گرفت. جذب نوری محلول (OD) در طول موج ۵۳۵ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید [۲۷].

اندازه‌گیری FRAP (Ferric reducing ability of plasma)

مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP با ۵۰ میکرولیتر نمونه مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و جذب نوری (OD) در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شد [۲۹،۲۸].

اندازه‌گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز(SOD)

نقش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) تسریع تبدیل رادیکال سوپراکسید تولید شده در طی فرآیندهای اکسیداتیو به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی می‌باشد. در این روش اندازه‌گیری از گزانتین (Xanthine) و گزانتین اکسیداز (Xanthine Oxidase)برای تولید رادیکال‌های سوپراکساید

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

استفاده شده است، سپس این رادیکال‌های سوپراکسید با 5-(4-nitrophenol)-3-(4-iodophenyl)-2-phenyltetrazoliyum chloride (INT)برای تشکیل رنگ قرمز فورمازان واکنش می‌دهد. یک واحد SOD باعث مهار ۵۰درصد سرعت واکنش INT تحت شرایط اندازه‌گیری می‌شود [۲۹،۲۸].

اندازه‌گیری فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز(GPx)

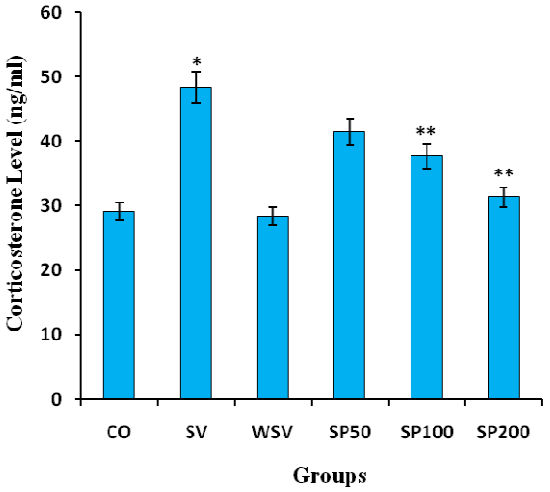
اکسیداسیون گلوتاتیون توسط Cumene hydroperoxideکاتالیز می‌گردد. در حضور گلوتاتیون ردوکتاز وNADPH، بلافاصله گلوتاتیون اکسیده به گلوتایتون احیاء تبدیل شده و هم‌زمان NADPH به NADP اکسید می‌شود. کاهش جذب نور در ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و عدد آن در فاکتور قید شده در کیت ضرب گردید و میزان فعالیت بر حسب Unit به‌دست آمد [۲۹،۲۸].

محاسبات آماری. در این تحقیق تمامی داده‌ها به‌صورت mean±SEM ارائه شده‌اند. داده‌های حاصل در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانسیک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تکمیلیTukeyتوسط نرم‌افزار SPSS، Version 20، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری۰/۰۵>P در نظر گرفته شد.

نتایج

ارزیابی سطح کورتیکوسترون خون. میانگین سطح کورتیکوسترون در خون حیوانات بارداری که تحت استرس محدودیت حرکتی بودند(۴۴/۴±۴۸/۴۶) نسبت به گروه کنترل(۲/۷۷±۲۹/۰۹) افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۰۱). عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی باعث کاهش در سطح کورتیکوسترون خون گردید و این کاهش فقط در گروه پروپولیس با دوز ۲۰۰ mg/kg، (۴/۰۵±۳۱/۳۶) معنی‌دار بود (P<۰/۰۱) (شکل ۱).

یافته‌های بافت‌شناسی. شکل۲ نمای میکروسکوپ نوری بافت مغز را در بخش میانی ساقه مغز نشان می‌دهد. در گروه کنترل تقریباً پریکاریون تمام نورون‌ها وضعیت طبیعی داشته و تغییرات دژنراتیو قابل مشاهده نمی‌باشد (شکل ۲، A)، در گروه استرس تعداد زیادی از پریکاریون نورون‌ها به‌صورت متراکم و تیره بوده که نشان‌دهنده تغییرات دژنراتیو و احتمالاً فرآیند آپوپتوز در آن‌ها است به همین دلیل جمعیت نورون‌هایی با پریکاریون سالم کاهش نشان می‌دهد (شکل ۲، B). در گروه‌های استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس با دوز ۲۰۰ mg/kg و ۱۰۰ تغییرات تخریبی ناشی از استرس به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافته و اکثریت پریکاریون‌ها در حالت طبیعی قابل مشاهده می‌باشند (شکل ۲، C, D).

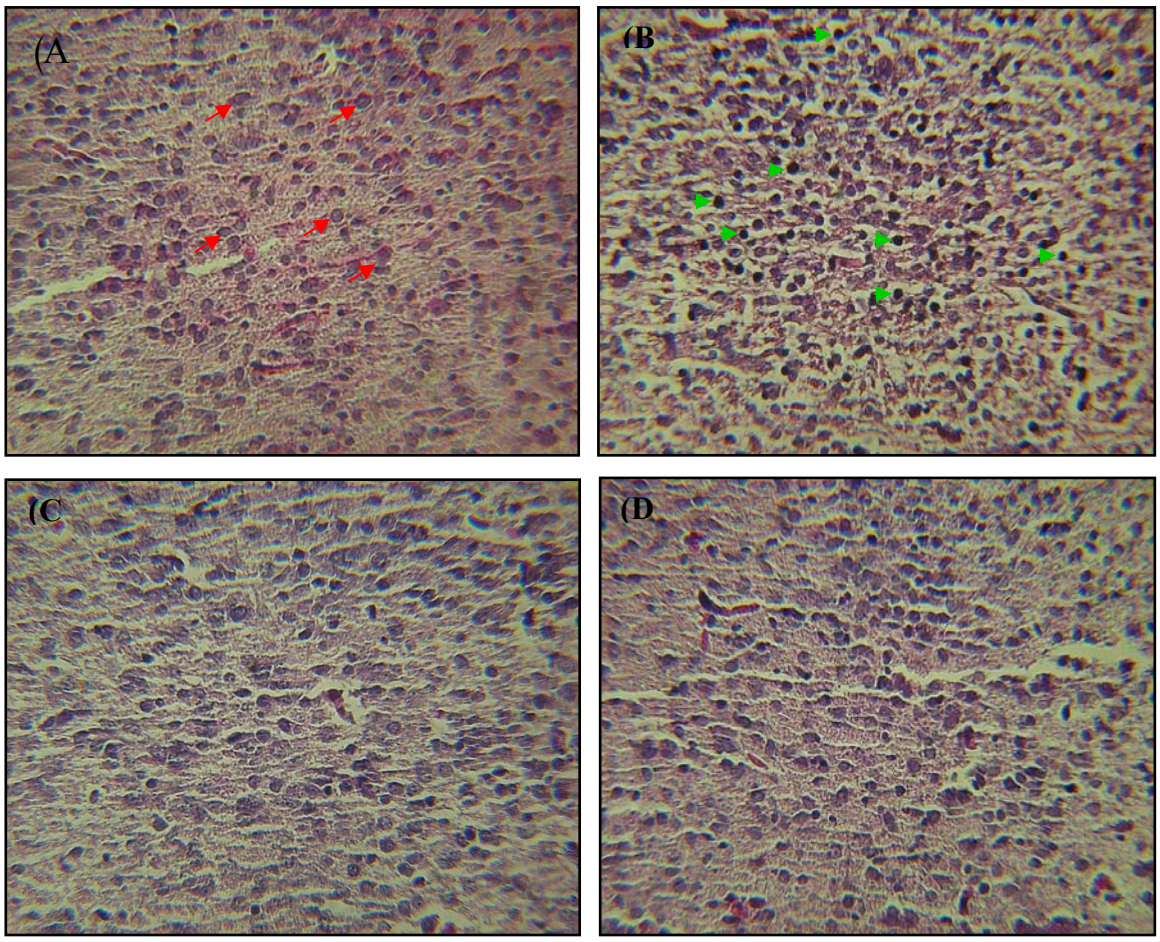


شکل ۱. اثر عصاره پروپولیس بر سطح سرمی کورتیکوسترون حیوانات باردار تحت استرس مزمن پره ناتال. گروه کنترل(CO) ، گروه استرس حلال خالی(SV)، گروه بدون استرس حلال خالی (WSV)، گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس50 mg/kg (SP50)، گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس100 mg/kg (SP100) و گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس200 mg/kg (SP200).داده ها به صورت Mean ± SEM ارائه شده است.*: اختلاف معنی دار در سطح P<۰/۰۰۱ بین گروه استرس با گروه نرمال، **: اختلاف معنی دار در سطح P<۰/۰۱ بین گروه های پروپولیس ۱۰۰و۲۰۰ با گروه استرس، (n=۸)

ارزیابی میزان شاخص استرس اکسیداتیوMDA (مالون‌دی‌آلدئید) در بافت مغز جنین. میزان شاخص استرس اکسیداتیوMDA در بافت مغز جنین‌های ۲۱ روزه گروه تحت استرس پره‌ناتال (۰/۰۰۵±۰/۵۹) نسبت به گروه کنترل (۰/۰۰۶±۰/۴۲) افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۰۱). درمان جنین‌های تحت استرس مزمن محدودیت حرکتی با عصاره پروپولیس (دوزهای۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

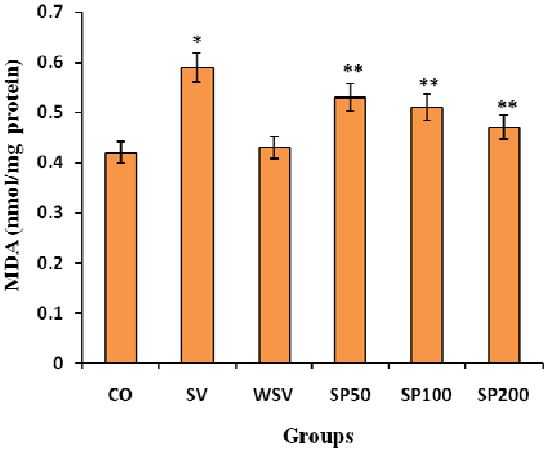
میلی‌گرم بر کیلوگرم) باعث کاهش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدئید بافت مغز (به ترتیب، ۰/۰۰۶±۰/۵۳، ۰/۰۰۷±۰/۵۱ و ۰/۰۰۶±۰/۴۷)گردید (P<۰/۰۱) (شکل ۳). از طرفی اختلاف سطح MDA بافت مغز بین گروه‌هایپروپولیس ۵۰ و ۲۰۰ (P<۰/۰۱) و هم‌چنین بین گروه‌های پروپولیس ۱۰۰ و ۲۰۰ (P<۰/۰۱) از لحاظ آماری معنی‌دار بود. لذا به نظر می‌رسد که اثر عصاره پروپولیس ایرانی بر کاهش سطح MDA بافت مغز به‌صورت وابسته به دوز می‌باشد (شکل ۳).



شکل ۲. تصاویر میکروسکوپ نوری از بخش میانی ناحیه ساقه مغز جنین‌های ۲۱ روزه تحت استرس مزمن پره ناتال. A گروه کنترل (CO)، B گروه استرس+ حلال خالی(SV)، Cگروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس100 mg/kg (SP100)، Dگروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس 200 mg/kg (SP200). (←) نشاندهنده پریکاریون نورونهای سالم، (▶) نشاندهنده پریکاریون نورونهای در حال تخریب و فرآیند آپوپتوز، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی ۴۰×

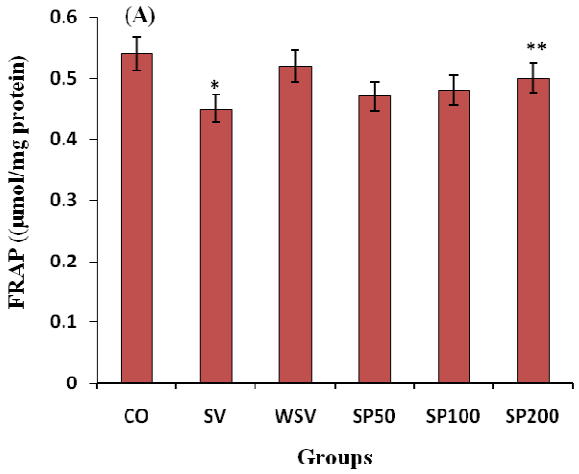
ارزیابی میزان شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت مغز جنین. میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی کل بافت (FRAP)، سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و سطح آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) در بافت مغز جنین‌های ۲۱ روزه گروه تحت استرس مزمن (به ترتیب، ۰/۰۰۶±۰/۴۴، ۰/۰۰۶±۰/۴۹۵، ۰/۰۰۷±۰/۱۰۹) نسبت به گروه کنترل بدون استرس (به ترتیب، ۰/۰۰۹±۰/۵۴، ۰/۰۰۸±۰/۶۲۷، ۰/۰۰۵±۰/۱۶) کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۱) (شکل ۴، A, B, C). درمان موش‌های باردار تحت استرس مزمن با عصاره پروپولیس ایرانی باعث افزایش شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی بافت مغز در جنین‌های ۲۱ روزه گردید.

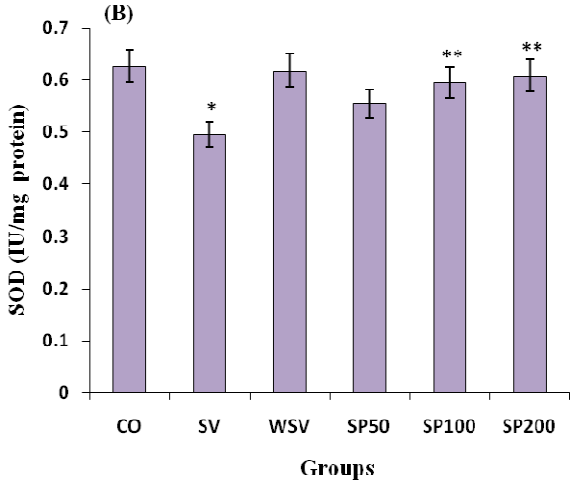
[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

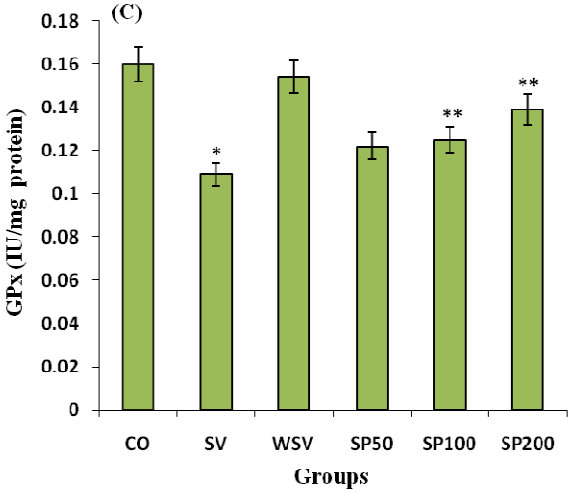


این افزایش در مورد SOD و GPx با دوزهای mg/kg ۱۰۰ (به ترتیب ۰/۵۹۵±۰/۰۰۵ و ۰/۱۲۵±۰/۰۰۵) و mg/kg ۲۰۰ (به ترتیب ۰/۶۰۸±۰/۰۰۶ و ۰/۱۳۹±۰/۰۰۴) از لحاظ آماری معنی‌دار بود ولی در مورد FRAP فقط با دوز mg/kg ۲۰۰ (۰/۵۱±۰/۰۰۷) معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۰۱) (شکل ۴، A, B, C).

شکل ۳. اثر عصاره پروپولیس بر میزان مالون دی آلدهید (MDA)بافت مغز جنین‌های ۲۱ روزه تحت استرس مزمن پره ناتال. گروه کنترل(CO) ، گروه استرس حلال خالی(SV)، گروه بدون استرس حلال خالی (WSV)، گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس mg/kg 50 (SP50)، گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس mg/kg 100 (SP100) و گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس mg/kg 200 (SP200). داده ها به صورت Mean ± SEM ارائه شده است.*: اختلاف معنی دار در سطح P۰/۰۰۱> بین گروه استرس با گروه نرمال، **: اختلاف معنی دار در سطح P۰/۰۱> بین گروه های پروپولیس ۵۰، ۱۰۰و۲۰۰ با گروه استرس، (n=۸).







شکل ۴. اثر عصاره پروپولیس بر میزان شاخص آنتی اکسیدانی تام بافت (A, FRAP) ، میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (B, SOD) و میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (C, GPx) بافت مغز جنین های ۲۱ روزه تحت استرس مزمن پره ناتال. گروه کنترل (CO)، گروه استرس حلال خالی(SV)، گروه بدون استرس حلال خالی (WSV)، گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس mg/kg 50 (SP50)، گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس mg/kg 100 (SP100) و گروه استرس تحت درمان با عصاره پروپولیس mg/kg 200 (SP200). داده ها به صورت Mean ± SEM ارائه شده است.*: اختلاف معنی دار در سطح P< ۰/۰۰۱ بین گروه استرس با گروه کنترل، **: اختلاف معنی دار در سطح P< ۰/۰۱ بین گروه های پروپولیس۱۰۰و۲۰۰ با گروه استرس، (n=۸).

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استرس محدودیت حرکتی پره‌ناتال باعث افزایش معنی‌دار سطح کورتیکوسترون خون و میزان شاخص استرس اکسیداتیو MDA و کاهش معنی‌دار میزان FRAP، SOD و GPx در بافت مغز جنین‌های ۲۱ روزه نسبت به گروه کنترل می‌شود. درمان موش‌های باردار تحت استرس مزمن با عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی، به‌طور معنی‌داری سطح کورتیکوسترون خون را کاهش و میزان MDA را در مغز جنین‌ها کاهش و هم‌چنین میزان FRAP، SOD و GPx را افزایش داد.

در بسیاری از مطالعات حیوانی نشان داده شده است که استرس پره‌ناتال ناهنجاری‌هایی در مغززاده‌ها شامل؛ کاهش حجم هیپوکمپ، کاهش تراکم ماده‌ی سفیدرابط قدامی، کاهش حجم هسته‌های ناحیه‌ی آمیگدال و اختلال در حافظه، یادگیری و احساسات، کاهش حجم کورپوس کالوزوم مغز، کاهش خارهای دندریتی نورون‌های هرمی قشر مغز، کاهش نسبت سلول‌های دانه‌دار به سلول‌های پورکنژ مخچه، کاهش حجم هسته‌های هیپوتالاموس و بیماری‌هایی از قبیل شیزوفرنی، اوتیسم، بیش‌فعالی و اختلالات رفتاری ایجاد می‌کند [۱۶،۱۵،۱۱،۲،۱].

در مطالعه حاضر، سطح کورتیکوسترون در خون حیوانات باردار افزایشیافت. یافته‌های قبلی نشان داده‌اند که مکانیسم اصلی اثر استرس پره‌ناتال بر جنین از طریق مسیر HPA (Hypothalamic-Pituitary-Adrenal pathway) اتفاق می‌افتد و نتیجه‌ی آن افزایش کورتیزول (کورتیکوسترون در جوندگان) در خون مادر است [۱۶،۱۵،۲،۱]. گزارش شده است سطح بالای کورتیزول که از طریق جفت به جنین انتقال می‌یابد تکامل نواحی فوق در مغز جنین را تحت تأثیر قرار می‌دهد. هم‌چنین افزایش کورتیزول باعث مهار یا کاهش بیان آنزیم مهارکننده‌ی گلوکوکورتیکوئید (HSD-۱۱) در جفت می‌شودکه نتیجه‌ی آن قرار گرفتن بیش‌تر جفت و جنین در معرض گلوکوکورتیکوئیدها می‌باشد [۲]. مواجهه‌ی گسترده با گلوکوکورتیکوئیدها در اثر استرس پره‌ناتال، حساسیت فیدبکمنفی HPA را به وسیله‌ی کاهش تراکم گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی (GR) و مینرالوکورتیکوئیدی (MR) در هیپوکمپ و هیپوتالاموس تضعیف می‌کند، بنابراین سطح گلوکوکورتیکوئیدها به مدت طولانی در پلاسما بالا باقی می‌ماند [۳۰،۱۲،۱۱]. از طرف دیگر افزایش شدید گلوکوکورتیکوئیدها در خون به دنبال استرس، باعث ایجاد استرس اکسیداتیو سلولی می‌شود [۱۲]. ROS تولید شده در استرس اکسیداتیو در ساختار و عمل‌کرد مولکول‌هایی حیاتی از قبیل لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها تغییر ایجاد کرده که منجر به آسیب و مرگ سلولی می‌شود به طوری‌که بر اساس یافته‌های امروزی استرس اکسیداتیو در ایجاد بیش از صد بیماری نقش ایفا می‌کند [۳۱].

اکسیداسیون لیپیدهای غشاء از طریق افزایش خاصیت هیدروفیلی آن باعث تغییر در ساختار، نفوذپذیری و اتصال گیرنده‌ها و آنزیم‌ها به غشاء می‌شود. هم‌چنین رادیکال‌های آزاد باعث تولید آلدئیدهای گوناگون از جمله مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در غشاء می‌شوند [۱۴]. نتایج پژوهش حاضر نیز حاکی از افزایش تولید MDA در اثر استرس اکسیداتیو بوده که در راستاییافته‌های فوق می‌باشد.

سلول‌های بدن به طور طبیعی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد هستند. سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی شامل مسیرهای آنتی‌اکسیدانی آنزیماتیک مثل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و کاتالاز و غیرآنزیماتیک مثل گلوتاتیون (GSH)، اسید آسکوربیک (ویتامین C)، توکوفرول (ویتامین E) کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها می‌باشد. جهت تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی تام (آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیماتیک)، میزان FRAP اندازه‌گیری می‌شود [۳۵-۳۲، ۱۳، ۱۲]. در مطالعات قبلی مشاهده شده است که پراکسیداسیون لیپیدی در طول دوران بارداری افزایش چشم‌گیری پیدا می‌کند. هم‌چنین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در اواخر حاملگی کم‌تر بوده و این کاهش تا پایان دوره‌ی شیردهی ادامه می‌یابد [۳۵].

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

افـزایش گلوکوکورتیکوئیـدها بـه دنبـال اسـترس، دفـاع آنتی‌اکسیدانی بدن را مختل نمـوده و تعـادل بـین فاکتورهـای اکسیدان و آنتی‌اکسیدان بدن را تغییر می‌دهـد. در کشـت‌هـای سـلولی نیـز مشـاهده شـده اسـت کـه گلوکوکورتیکوئیـدها تولیدROS را افزایش می‌دهند [۳۶،۱۲]. مطالعات قبلی نشـان داده‌اند که تزریـق کورتیکوسـترون، آنـزیم لیپیـد هیدروکسـی پراکسیداز را در هیپوکمپ افزایش و آنزیم‌های آنتـی‌اکسـیدان مثل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسـیداز را کاهش می‌دهد و بـه ایـن طریـق منجـر بـه نقـص عمـل‌کـرد فعالیت‌های شناختی در رت می‌شود [۱۲].

در بین اندام‌های بدن، بافت مغز به دلیل مصـرف اکسـیژن بالا (۲۰درصـد اکسـیژن مصـرفی کـل بـدن)، غنـی بـودن از سوبستراهای قابـل اکسـید (غنـی بـودن غشـاء نـورون‌هـا از اسیدهای چرب غیر اشباع) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پایین، بـه آسیب پراکسیداتیو حساسیت بیش‌تری دارد که می‌تواند منجـر بـه بیمـاری‌هـایی از قبیـل آلزایمـر، پارکینسـون و ... گـردد. هم‌چنین در بافت مغز به میـزان زیـادی کاتالیزورهـای فلـزی مانند آهن یافت می‌شود که نقش مهمی در ایجـادROS دارنـد [۳۶،۱۲-۳۲]. نشان داده شده است که به دنبال استرس مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به خصوص سوپراکسـید دیسـموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در نورون‌ها کاهش می‌یابد که مـی‌توانـد توانایی نورون را در مقابله با استرس‌هـای اکسـیداتیو کـاهش داده و در نهایت منجر به آسیب نورونی شود [۳۷]. همان‌طـور که در نتایج ما مشاهده شد احتمالاً استرس اکسیداتیو ناشی از اسـترس محـدودیت حرکتپیـره‌ناتـال، باعـث کـاهش میـزان آنزیم‌های آنتی‌اکسـیدان سوپراکسـید دیسـموتازو گلوتـاتیون پراکسیداز در بافت مغز جنین‌هـای ۲۱ روزه شـده اسـت کـه توسط یافته‌های فوق تایید می‌شود.

پروپولیسیکی از غنـی‌تـرین منـابع فنولیـک‌هـای گیـاهی (فلاونوئیدها و فنولیک‌اسیدها) است که بـه طـور گسـترده بـه عنـوان آنتـی‌اکسـیدان‌هـای قـوی تشـخیص داده شـده انـد [۳۹،۳۸،۲۳،۲۲،۱۹،۱۸]. ایـن ترکیبـات قـادر بـه برداشـت رادیکال‌های آزاد، حفاظـت لیپیـدها و دیگـر ترکیبـات مثـل ویتـامینC در برابـر اکسیدشـدنیا تخریـب در طـی اسـترس اکسیداتیو می‌باشند [۱۹،۱۲]. گزارش شده اسـت کـه فعالیـت آنزیمی و غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدان‌هـا بـه طـور قابـل تـوجهی توسط پروپولیس افزایشیافته و هم‌چنـین پروپـولیس افـزایش معنی‌داری را در سطح ویتامینC پلاسما، کلیـه، معـده، روده‌ی کوچک و روده‌ی بزرگ القا مـی‌کنـد. ثابـت شـده اسـت کـه پروپولیس از گـردش خـون جـذب شـده و بـه عنـوان یـک آنتی‌اکسیدان آب‌دوست در جذب ویتامینCنقش ایفا مـی‌کنـد [۲۱]. گزارش شده است علاوه بر فلاونوئیدها، ترکیبی بـه نـام اسـترفنتیـل کافئیـک‌اسـید (CAPE) نیـز مسـئول خـواص آنتی‌اکسیدانی پروپولیس می‌باشد که این ترکیب از غشاء سلول در برابر پراکسیداسیون لیپیدها محافظت می‌کنـد. در مطالعـات قبلـی نشـان داده شـده اسـت کـه CAPE بـه عنـوان یـک آنتی‌اکسیدان، سطح مالون‌دی‌آلدئیـد را بـه وسـیله‌ی سـرکوب تولیـد رادیکـال آزاد اکسـیژن کـاهش مـی‌دهـد [۴۰]. هم‌چنینمشاهده شده است که پروپولیس اثرات حفاظت نورونی سیستم عصبی مرکزی دارد و این اثـرات تـا حـدی از طریـق اثرات آنتی‌اکسیدانی آن میانجی‌گری می‌شود. برای مثال اخیـراً مشاهده شده است پروپولیس با افزایش سطح ویتامین‌هـایEو C در مغز و بنابراین ارتقاء ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سـلول‌هـا و نورون‌های مغزی، منجر به کـاهش پراکسیداسـیون لیپیـدها و اکسیداسیون پروتئین‌ها در مدل نوروتوکسیسیتی القاشده توسط سرب می‌شود [۲۱]. هم‌چنین گزارش شده است کـه CAPE و اجزاء قابل حل پروپولیس در آب در شرایط ایسکمی موقـت، از آسیب نورون‌ها جلوگیری می‌کنند و در برابر آسیب القاشده توسط استرس اکسیداتیو در شبکیه نقـش حفـاظتی دارنـد. از طرف دیگر عصاره‌ی الکلی پروپـولیس از بیـان ژن و فعالیـت آنزیمیiNOS نیز جلوگیری می‌کند [۴۱].

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پروپـولیس ایرانـی قـادر است از استرس اکسـیداتیو ناشـی از اسـترس سـایکولوژیک محدودیت حرکتی پره‌ناتال جلوگیری کـرده و اثـرات مخـرب ناشی از آن را در بافت مغز کاهش دهد. در واقـع پروپـولیس (به‌ویژه دوزهایmg/kg ۲۰۰ و ۱۰۰) به‌طور معنی‌داری سطح

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

پلاسمایی کورتیکوسترون خون مادر و مالون‌دی‌آلدئید بافت مغز جنین‌ها را کاهش و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و میزان آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را در بافت مغز افزایش داد. در نتیجه این اثرات مفید می‌توانند پروپولیس را به‌عنوان یک ترکیب با پتانسیلحفاظتی قوی در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو مطرح نمایند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم پزشکی سمنان که با تامین اعتبار لازم، امکان انجام این تحقیق را فراهم نمودند و هم‌چنین از سرکار خانم کوهساریان کارشناس محترم گروه بیوشیمی، سرکار خانم پهلوان و سرکار خانم مجیدی کارشناسان محترم بخش گروه علوم تشریح به خاطر همکاری خالصانه، تشکر و قدردانی می‌شود. این مقاله از پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریح استخراج شده است.

منابع

[1] Relier JP. Influence of maternal stress on fetal behavior and brain development. Biol Neonate 2001; 79: 168-171.

[2] Charil A, Laplante DP, Vaillancourt C, King S. Prenatal stress and brain development. Brain Res Rev 2010; 65: 56-79.

[3] Ahmadi H, Rostami P. The effect of prenatal restraint stress on the immunefunction of 60 days male rats. J Isfahan Med Sch 2008; 26: 286-293.(Persian).

[4] Ochiai T, Ohno S, Soeda S, Tanaka H, Shoyama Y, Shimeno H. Crocine prevent the death of rat pheochromyctoma (pc12) cells by its antioxidant effects stronger than those of alphatocopherol. Neurosci Lett 2004; 362: 61-64.

[5] Wolf OT.HPA axis and memory. Best Pract Clin Endocrinol Metab 2003; 17: 287-299.

[6] McGaugh JL1, Roozendaal B. Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. Curr Opin Neurobiol 2002; 12: 205-210.

[7] Wolf OT. Stress, memory and aging: relevance for the peri- and post-menopausal woman. Menopausal Management 2007; 22-30.

[8] De Kloet ER. Hormones and the stressed brain. Ann N Y Acad Sci 2004; 1018: 1-15.

[9] de Kloet ER, Oitzl MS, Joëls M. Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? Trends Neurosci 1999; 22: 422-426.

[10] Conrad CD. The relationship between acute glococorticoid levels and hippocampal function depends upon task aversiveness and memory processing stage. Nonlinearity Biol Toxicol Med 2005; 3: 57-78.

[11] Ulupnar E. Effects of prenatal stress on developmental anatomy of the brain and adult behavioural pathology. Anatomy 2009; 3: 3-13.

[12] Sato H, Takeyuki T, Sumitani K, Tkastu H, Urano S. Glucocorticoid generates ROS to induce oxidative injury in the hippocampus, leading to impairment of cognitive function of rats. J Clin Biochem Nutr 2010; 47: 224-232.

[13] Lushchak V. Oxidative stress–environmental induction and dietary antioxidants, the effects of propolis in animals exposed oxidative stress. In Tech 2012; 267-288.

[14] Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR. Safranal, a constituent of Crocus sativus (saffron), attenuated cerebral ischemia induced oxidative damage in rat hippocampus. J Pharm Pharm Sci 2005; 8: 394-399.

[15] Wu J, Song TB, Li YJ, He KS, Ge L, Wang LR. Prenatal restraint stress impairs learning and memory and hippocampal PKCbeta1 expression and translocation in offspring rats. Brain Res 2007; 1141: 205-213.

[16] Lemaire V, Koehl M, Le Moal M, Abrous DN. Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. Proc Natl Acad Sci U S A 2000; 97: 11032-11037.

[17] Lotfy ML. Biological activity of bee propolis in health and disease. Asian Pac J Cancer Prev 2006; 7: 22-31.

[18] Jasprica I, Bojic M, Mornar A, Besic E, Bucan K, Medic-Saric M. Evaluation of antioxidative activity of croatian propolis samples using DPPH· and ABTS·+ stable free radical assays. Molecules 2007; 12: 1006-1021.

[19] Bogdanov S. Functional and biological properties of the bee products. Bee Pro Sci 2011; 1-12.

[20] Gulcin I, Bursal E, Sehitoglu MH, Bilsel M, Goren AC. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, turkey. Food Chem Toxicol 2010; 48: 2227-2238.

[21] El-Masry TA, Emara AM, El-Shitany NA. Possible protective effect of propolis against leadinduced neurotoxicity in animal model. J Evolut Biol Res 2011; 3: 4-11.

[22] Mohammadzadeh S, Sharriatpanahi M, Hamedi M, Amanzadeh Y, Sadat Ebrahimi S, Ostad S. Antioxidant power of Iranian propolis extract. Food Chem 2007; 103: 729-733.

[23] Arul Selvan K, Prabhu T. Extraction of propolis from beehives and characterization of its constituents and medicinal properties. Inter JAdv EnginTechnol 2010; 11: 50-53.

[24] Miyagawa K, Tsuji M, Fujimori K, Saito Y, Takeda H. Prenatal stress induces anxiety-like behavior together with the disruption of central serotonin neurons in mice. Neurosci Res 2011; 70: 111-117.

[25] Ghassemi L, Zabihi E, Mahdavi R, Seyedmajidi M, Akram S, Motallebnejad M. The effect of ethanolic extract of propolis on radiation-induced mucositis in rats. Saudi Med J 2010; 31: 622-626.

[26] Rashidy-Pour A, Taherian A, Vafaei A, Miladi-Gorji H, Sadeghi H, Fathollahi Y, et al. Verapamil enhances the impairing effects of stress on retrieval of long-term memory in rats. Koomesh 2006; 8: 85-90.(Persian).

[27] Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. Anal Biochem 1978; 86: 271-278.

[28] Benzie IF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods Enzymol 1999; 299: 15-27.

[29] Benzie IF, Strain JJ.. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal Biochem 1996; 239: 70-76.

[30] Gulino A, De Smaele E, Ferretti E. Glucocorticoids and neonatal brain injury: the hedgehog connection. J Clin Invest 2009; 119: 243-246.

[31] Popovic M, Janicijevic-Hudomal S, Kaurinovic B, Rasic J, Trivic S, Vojnović M. Antioxidant effects of some drugs on immobilization stress combined with cold restraint stress. Molecules 2009; 14: 4505-4516.

[32] Thompson LP, Al-Hasan Y. Impact of oxidative stsress in fetal programming. J Pregnancy 2012; 2012: 1-8.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[33] Melo A, Monteiro L, Lima RM, Oliveira DM, Cerqueira MD, El-Bachá RS. Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. Oxid Med Cell Longev 2011; 2011: 1-11.

[34] Ikonomidou C, Kaindl AM. Neuronal death and oxidative stress in the developing brain. Antioxid Redox Signal 2011; 14: 1535-1550.

[35] Upreti K, Misro MM. Evaluation of oxidative stress and enzymatic antioxidant activity in brain during pregnancy and lactation in rats. Health Popul 2002; 25: 105-112.

[36] Fontella FU, Siqueira IR, Vasconcellos AP, Tabajara AS, Netto CA, Dalmaz C. Repeated restraint stress induces oxidative damage in rat hippocampus. Neurochem Res 2005; 30: 105-111.

[37] Higgins GC, Beart PM, Shin YS, Chen MJ, Cheung NS, Nagley P. Oxidative stress: emerging mitochondrial and cellular themes and varitions in neuronal injury. J Azheimers Dis 2010; 20:S453-473.

[38] Fonseca YM, Marquele-Oliveira F, Vicentini FT, Furtado NA, Sousa JP, Lucisano-Valim YM, Fonseca MJ.Evaluation of the potential of Brazilian propolis againstUV-induced oxidative stress.Evid Based Complement Alternat Med 2011; 2011: 1-8.

[39] Miguel MG, Nunes S, Dandlen SA, Cavaco AM, Antunes MD. Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from algarve, south of portugal. Food Chem Toxicol 2010; 48: 3418-3423.

[40] Seven I, Aksu T, Seven PT. The effects of propolis on biochemical parametersand activity of antioxidant enzymes in broilers exposed to lead-induced oxidative stress. Asian Aust J Anim Sci 2010; 23: 1482-1489.

[41] Kasai M, Fukumitsu H, Soumiya H, Furukawa S. Ethanol extract of Chinese propolis facilitates functional recovery of locomotor activity after spinal cord injury. Evid Based Complement Alternat Med 2011; 2011: 1-9.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

Effects of hydroalcoholic extract of Propolis on oxidative stress indices of rat fetal brain induced by chronic prenatal stress

Hamid Reza Sameni (Ph.D)[1], Fatemeh Kavakebian (M.Sc)[*1], Mohammad Hassan Amjad (M.Sc)[1], Ahmad Reza Bandegi (Ph.D)[2], Behpoor Yousefi (Ph.D)[1], Abbas Ali Taherian (M.D)[3]

1 - Research Center of Nervous System Stem Cells, Dept. of Anatomical Sciences, School of Medicine, Semnan University of Medical sciences, Semnan, Iran

2 - Research Center of Nervous System Stem Cells, Dept. of Biochemistry, School of Medicine, Semnan University of Medical sciences, Semnan, Iran

3 - Research Center of Physiology, Dept. of Anatomical Sciences, School of Medicine, Semnan University of Medical sciences, Semnan, Iran

(Received: 25 Sep 2013; Accepted: 20 Jan 2014)

Introduction: Prenatal stresses have different effects on structural features and antioxidant system in the fetus and build up disturbances in the hypothalamus-pituitary-adrenalaxis. Propolis is known as one of the strongest natural antioxidants. The purpose of this study was to investigate the effects of hydroalcoholic extract of Propolis on indices of oxidative stress induced by prenatal stress in the rat fetal brain.

Materials and Methods: Pregnant female Wistar rats were divided into 6 groups: Control, stress+Propolis solvent, non-stress +Propolis solvent, stress +Propolis 50 mg/kg, stress + Propolis 100 mg/kg and stress + Propolis 200 mg/kg. In the third to sixth groups, stress was created by restrainer for 6 hours per day from day 12 to day 20 of gestation in the rats. Then, the blood corticosterone and malondialdehyde (MDA), ferric ion reducing antioxidant power (FRAP), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) levels in brain were measured on day 21 of pregnancy.

***Results*:** Chronic prenatal stress significantly increased blood corticosterone levels and MDA, whileas, reduced the levels of FRAP, SOD and GPx in the brain tissue of 21 days old embryos. Treatment of pregnant rats under chronic stress with extract of Iranian Propolis significantly reduced corticosterone levels in blood and brain's MDA and also increased FRAP, SOD and GPx in the brain tissue from fetuses.

Conclusion: Our findings showed that Iranian Propolis prevents from increasing serum corticostrone and brain MDA levels and from decreasing FRAP, SOD and GPx levels in brain under prenatal stress.

***Keywords*:** propolis, Prenatal stress, Oxidative stress, Fetal brain, Rats

*Corresponding author. Fax: +98 23 33354177 Tel: +98 23 33354218

hrsameni@gmail.com

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

How to cite this article:

Sameni H, Kavakebian F, Tabriziamjad M, Bandegi A, Yousefi B, Taherian A. Effects of hydroalcoholic extract of Propolis on oxidative stress indices of rat fetal brain induced by chronic prenatal stress. koomesh. 2014; 15 (4) 15 (4) :482-492

URL http://koomeshjournal.semums.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-23-4&slc_lang=fa&sid=1