

## بررسی تاثیر استرس بی حرکتی دوران بارداری بر روی رفتارهای صرعی فرزندان در موش‌های صحرایی

رامین احمدزاده<sup>۱</sup>، علی اصغر پیله وریان<sup>۲</sup>، شیوا روشن میلانی<sup>۳</sup>، محمدحسن خادم انصار<sup>۴</sup>، احسان صبوری<sup>۵\*</sup>

تاریخ دریافت ۸۹/۷/۲، تاریخ پذیرش ۸۹/۱۱/۱۱

### چکیده

**پیش زمینه و هدف:** مطالعات قبلی حکایت از آن دارند که استرس باعث تشدید تشنج در صرع می‌شود. اما روشن نیست استرس به چه میزان و با چه مکانیسمی رفتارهای صرعی را تشدید می‌کند. در مطالعه حاضر، اثر غیر مستقیم استرس بی حرکتی موش‌های صحرایی باردار، بر رفتارهای صرعی فرزندان آن‌ها بررسی شده است.

**مواد و روش کار:** موش‌های صحرایی ماده ( $20 \pm 20$  گرمی) در دو گروه قرار گرفتند: ۱. موش‌های صحرایی حامله دست نخورده (گروه کنترل)، ۲. موش‌های صحرایی حامله استرس دیده (گروه استرس). موش‌های صحرایی گروه استرس در روز ۱۵ حاملگی در داخل لوله Plexiglas با تواتر ۲ بار در روز، هر بار به مدت یک ساعت، تا ۳ روز متوالی بی حرکت نگه داشته شدند. در ادامه، در روز ۲۵ بعد زایمان، به توله‌های هر دو گروه پیلوکارپین (c150.mg/kgs) تزریق شد تا رفتارهای صرعی القا گردد. سپس، رفتار هر توله به مدت ۱۲۰ دقیقه مشاهده و توسط دوربین دیجیتال ثبت شد.

**یافته‌ها:** رفتارهای صرعی فرزندان گروه استرس تغییرات معنی‌داری نسبت به فرزندان گروه کنترل داشت: مدت زمان تا شروع اولین رفتار صرعی در فرزندان گروه کنترل  $5/35 \pm 0/57$  دقیقه بود که در فرزندان گروه استرس به  $3/21 \pm 0/43$  دقیقه کاهش معنی‌داری یافت. میانگین دفعات و طول مدت حملات تونیک-کلونیک در فرزندان گروه کنترل به ترتیب ۵ بار و به مدت  $0/53$  دقیقه بود که در فرزندان گروه استرس به  $8/2$  بار و به مدت  $1/29$  دقیقه افزایش معنی‌داری یافت. میزان مرگ و میر حملات نیز افزایش ۲۱/۴ درصدی در فرزندان گروه استرس نشان داد.

**نتیجه گیری:** استرس دوران بارداری موش‌های صحرایی می‌تواند باعث تشدید رفتارهای صرعی در فرزندان آن‌ها شود، ولی کشف مکانیسم نیاز به بررسی بیشتری دارد.

**کلید واژه‌ها:** استرس بی حرکتی، رفتار صرعی، تشنج، پیلوکارپین، بارداری، موش صحرایی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و دوم، شماره اول، ص ۹-۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۰

آدرس مکاتبه: ارومیه، جاده سرو، پردیس نازلو دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی تلفن: ۰۹۱۴۱۸۷۵۹۴۶

Email: e.saboory@yahoo.com

### مقدمه

می‌شود (۲). در افراد مستعد از نظر ژنتیکی، استرس‌های حاد و مزمن باعث بروز بیماری‌های روانی مانند اسکیزوفرنیا، اضطراب و اختلال پس از ضربه می‌گردد (۳). در طول استرس یک افزایش دراماتیک در فعالیت نورآدرنژیک به دنبال رهاسازی اپی نفرین و نوراپینفرین از غده آدرنال وجود دارد (۴-۵). همچنین در طول استرس یک افزایش فوق‌العاده در آزاد شدن نوراپینفرین از آمیگدال و هیپو کمپ وجود دارد (۶).

استرس در مفهوم عام عاملی است که تعادل فیزیکی و روانی فرد را بهم زده و با ایجاد مشکلات روان تنی و مشکلات روانی کارایی فرد را در ابعاد مختلف زندگی کاهش می‌دهد. هرگونه استرس مزمن می‌تواند اثرات تخریبی در ارگان‌های بدن داشته باشد (۱). از دیدگاه روان‌شناختی استرس باعث کاهش تمرکز فکر، حواس پرتی، اختلال در حافظه، تردید در انجام کارها و کاهش قدرت تصمیم‌گیری

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

<sup>۲</sup> استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان

<sup>۳</sup> استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

<sup>۴</sup> دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

<sup>۵</sup> دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۶۴ راس موش صحرایی ماده با سن ۱۰ هفته استفاده شد. دو هفته بعد از رسیدن حیوانات به آزمایشگاه، هر یک از موش‌های ماده با یک موش نر که قبلاً تجربه جنسی داشت جفت شدند. در یک قفس مجزا در ساعت ۹ صبح موش‌های نر و ماده جفت شده و در ساعت ۳ بعد از ظهر موش ماده از نظر وجود پلاگ جفت گیری کنترل شد. بعد از مشاهده شدن پلاگ جفت گیری، ماده‌ها از نرها جدا شده، و در قفس‌های هشت تایی با دوره شبانه روزی ۱۲ ساعته معکوس در دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد با آب و غذای کافی نگهداری شدند. سپس موش‌ها بطور تصادفی به دو گروه مساوی ( $n=32$ ) بنام گروه کنترل و گروه استرس تقسیم شدند. گروه کنترل بدون هیچ مداخله‌ای نگهداری شد. اما گروه استرس در شروع آخرین هفته بارداری (روز ۱۵ حاملگی) به ترتیب زیر تحت استرس قرار گرفت.

*نحوه القاء استرس بی حرکتی:* در این نوع استرس، موش‌های حامله در شروع هفته سوم بارداری، یعنی روز ۱۵ حاملگی (E15) هر روز دو مرتبه و هر بار به مدت یک ساعت، در ساعت ۸ صبح و ۶ بعد از ظهر، به مدت ۳ روز متوالی در محفظه بی‌حرکت کننده ثابت نگه داشته شدند. در روز ۱۸ بارداری، تعداد ۸ راس از موش‌های حامله هر دو گروه (کنترل و استرس) گردن زده شد و خون آن‌ها جمع آوری گردید و مغز حیوان برای مطالعه دیگری بر داشته شد. در ادامه، در روزهای دوم و ششم بعد زایمان، در هر کدام از گروه‌ها تعداد ۸ راس از موش‌های مادر به همراه نوزادان گردن زده شدند و خون آن‌ها نیز جمع آوری گردید. خون‌های جمع آوری شده به منظور سنجش میزان هورمون کورتیکوسترون آنالیز گردیدند.

*نحوه جمع آوری خون موش‌ها:* در ساعت ۸:۳۰ صبح موش‌ها گردن زده شدند، و خون آن‌ها در لوله‌های میکرو سانتریفوژ با پوشش EDTA جمع آوری گردید. نمونه‌های خون جمع آوری شده در یخ نگه داری شدند، و بعداً به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۹۰۰۰ rpm در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردیدند. پلاسما بطور کامل به لوله‌های میکروسانتریفوژی انتقال یافت، و نمونه‌های پلاسمای بدست آمده در فریزر در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد برای تعیین میزان هورمون کورتیکوسترون نگهداری شدند. برای اندازه گیری کورتیکوسترون از کیت رادیوایمونیو اسی ( $I^{125}$  Rat RIA kit, Budapest, Hungary) استفاده شد.

*مطالعه رفتاری:* در روز ۲۵ بعد تولد، به منظور القاء تشنج به هر کدام از توله‌ها داروی پیلوکارپین به مقدار ۱۵۰ mg/kg به روش زیر جلدی تزریق شد. پیلوکارپین (Boehringer Ingelheim) از شرکت سینا دارو خریداری شد. به دنبال تزریق،

مطالعات حکایت از آن دارد که استرس باعث تشدید تشنج در صرع می‌شود (۷) از این رو روش‌هایی که استرس را کاهش می‌دهند و یا سازگاری فرد را افزایش می‌دهند، می‌توانند در کنترل تشنج در بیماران صرعی مفید باشند (۹،۸). هیجان‌ناشده استرس‌های روانی حتی در کسانی که هیچ سابقه‌ای از صرع ندارند ممکن است باعث ایجاد تشنج حاد شوند (۱۰) و می‌توانند به عنوان مستعد کننده تشنج عمل کنند (۱۱). گزارش شده است که وقایع منتج از استرس نظیر ترس، نگرانی و بی‌حوصلگی معمولاً با افزایش وقوع تشنج همراه هستند. دوره‌های طولانی مدت تحمل استرس به وضوح قدرت و اثر بخشی داروهای ضد تشنج را کاهش می‌دهد (۱۲).

اگرچه استرس‌ها می‌توانند حملات تشنجی در بیماران را تحت تاثیر بگذارند اما به درستی روشن نیست که استرس به چه میزان می‌تواند مدت زمان، تکرار و ماهیت حملات و تشنج‌های خود به خودی را تحت تاثیر قرار دهد و همچنین مکانسیم دخیل در ارتباط بین استرس و صرع نیز نامعلوم است (۱۳). اکثر مطالعات در بررسی اثر استرس دوران بارداری بر تکامل و رفتار فرزندان، بر روی موش‌های صحرایی انجام شده است. تعداد کمی مطالعه در میمون‌ها نیز انجام شده که یافته‌های آن‌ها هم در راستای نتایج بدست آمده در موش‌های صحرایی می‌باشد (۱۴).

از طرف دیگر گزارشات مخالفی در مورد اثر استرس بر صرع وجود دارد. نشان داده شده است که استرس‌های تجربی نظیر استرس شنا کردن در حیوانات اثر ضد صرعی دارد (۱۶،۱۵). مطالعات روی برش‌های زنده مغزی در موش‌های صحرایی و سوری (۱۷) نشان داده که استرس باعث تضعیف فعالیت‌های تشنجی شده است. در این مورد ذکر شده که استرس دوران بارداری باعث کاهش تعداد حملات ایکتال و کاهش زمان هر فعالیت بر روی اسلایس‌های هیپوکامپ و قشر انتورینال شده است (۱۸). اگر چه مکانسیم دقیق این اثرات متضاد روشن نیست اما حداقل گویای آن است که استرس‌های هیجانی می‌توانند صرع و دیگر سندرم‌های تشنجی را تحت تاثیر قرار دهند. علی‌رغم وجود این تناقض‌ها و بر پایه این اطلاعات ما فرض می‌کنیم که استرس مادر حامله می‌تواند یک فاکتور خطر برای آسیب‌های مغزی پری‌ناتال و افزایش حساسیت به صرع در فرزندان باشد.

برای آزمایش این فرضیه، در این مطالعه موش‌های حامله در معرض استرس بی‌حرکتی قرار گرفته و سپس بعد از زایمان فرزندان به روش رفتاری از نظر حساسیت به صرع، سطح خونی هورمون کورتیکوسترون و میزان مرگ و میر مورد مطالعه قرار گرفتند.

برای بروز حداکثر واکنش و مرگ و میر موش‌ها تا ۲۴ ساعت بعد از تزریق پیلوکارپین در دو گروه کنترل و استرس از طریق آزمون غیر پارامتریک Mann-Whitney test با هم مقایسه شدند. علاوه بر این غلظت هورمون‌ها در گروه‌های مختلف و در روزهای آزمایش از طریق ANOVA repeated measure مقایسه شد. تمام نتایج به صورت خطای معیار  $\pm$  میانگین نشان داده شده و  $p < 0.05$  معنی‌دار تلقی شده است.

### یافته‌ها

#### نتایج رفتارهای صرعی:

پیدایش و ماهیت رفتارهای صرعی به دنبال تزریق داروی پیلوکارپین در حیوانات گروه کنترل و تحت استرس به مدت ۲ ساعت از نظر توالی پیدایش رفتارها، طول مدت هر رفتار و تعداد دفعات تکرار، مورد بررسی قرار گرفتند که نتایج حاصله در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

رفتار هر یک از موش‌ها توسط دوربین دیجیتالی و دو نفر مشاهده گر ثبت شد و درجه حملات صرعی به ترتیب زیر مورد ارزیابی قرار گرفت.

رفتار صرعی در این مطالعه به صورت زیر طبقه بندی گردید (۱۹):

مرحله ۱: بی حرکتی

مرحله ۲: دراز کردن دست‌های جلویی و یا دم

مرحله ۳: حرکات مکرر، بالا و پایین رفتن سر

مرحله ۴: قرار گرفتن روی دو پا و افتادن

مرحله ۵: مدام بلند شدن و افتادن

مرحله ۶: حملات تونیک و کلونیک شدید

پارامترهای دیگر مثل اولین تغییر رفتار و طول مدت رسیدن

به حداکثر تشنج مورد ارزیابی قرار گرفت. حیوانات به مدت ۲۴ ساعت برای اثرات مرگبار پیلوکارپین مورد مشاهده قرار گرفتند.

روش‌های آماری: نشانه‌های بروز تشنج (مراحل شش‌گانه ذکر

شده در بالا)، زمان نهفته برای شروع حملات صرعی، زمان لازم

جدول شماره (۱): نتایج رفتارهای صرعی بعد از تزریق زیرجلدی پیلوکارپین در موش‌های صحرایی

رفتار صرعی	گروه کنترل	گروه استرس	آزمون غیر پارامتریک Mann-Whitney
مدت زمان از لحظه تزریق پیلوکارپین تا شروع اولین رفتار صرعی (بر حسب دقیقه)	۵/۳۵ ± ۰/۵۷	۳/۲۱ ± ۰/۴۳	* P= ۰/۰۱
تعداد دفعات بی حرکتی	۳/۴۵ ± ۰/۵	۲/۸ ± ۰/۵	
طول مدت زمان بی حرکتی (بر حسب دقیقه)	۳۵/۵۷ ± ۱۲/۶	۳۷ ± ۱۲/۸	
تعداد دفعات تکان‌های سر (بالا و پایین دادن سر)	۵/۲۵ ± ۱	۴/۹ ± ۱/۱	
طول مدت زمان تکان‌های سر (بر حسب دقیقه)	۰/۶۸ ± ۰/۱	۱/۰۵ ± ۰/۲	
تعداد دفعات دراز کردن دم	۳/۲ ± ۰/۵	۲/۸ ± ۰/۵	
طول مدت زمان دراز کردن دم (بر حسب دقیقه)	۰/۷۶ ± ۰/۱	۱/۱ ± ۰/۲۵	
طول مدت زمان به حداکثر رسیدن علائم	۴۱/۲۵ ± ۸/۱	۲۲/۴ ± ۳/۷	* P= ۰/۰۳۷
تعداد دفعات حملات فوکال	۴/۶ ± ۱/۱	۴/۱ ± ۰/۸	
طول مدت زمان حملات فوکال (بر حسب دقیقه)	۱ ± ۰/۳۵	۱/۷ ± ۰/۷	
تعداد دفعات حملات تونیک - کلونیک	۵ ± ۱/۲	۸/۲ ± ۲/۶	* P= ۰/۰۳
طول حملات تونیک - کلونیک (بر حسب دقیقه)	۰/۵۳ ± ۰/۱	۱/۲۹ ± ۰/۵	* P= ۰/۰۳
مرگ و میر در مدت ۲ ساعت مشاهده (درصد)	۱۴/۳	۳۵/۷	
مرگ و میر در مدت ۲۴ ساعت مشاهده (درصد)	۱۴/۳	۴۲/۸	

دفعات این حملات در گروه کنترل  $4/6 \pm 1/1$  دقیقه بود و در گروه تحت استرس این میانگین به  $4/1 \pm 0/8$  کاهش یافت. همچنین میانگین طول مدت زمان حملات فوکال در گروه کنترل  $1 \pm 0/35$  دقیقه بود که در گروه تحت استرس به  $1/7 \pm 0/7$  افزایش یافت. علی‌رغم تفاوت‌هایی که هم در تعداد و هم در طول مدت حملات فوکال بین دو گروه مشاهده شد ولی بررسی آماری اختلاف معنی‌داری را در هیچ‌کدام از پارامترهای حملات فوکال نشان نداد. در حملات تونیک کلونیک حیوان دچار حملات جنرال همراه با تکان‌ها و پرش‌های شدید در کل بدن شد. میانگین تعداد دفعات این حملات جنرال در گروه کنترل  $5 \pm 1/2$  دقیقه بود و در گروه تحت استرس به  $8/2 \pm 2/6$  افزایش یافت. از طرف دیگر میانگین طول مدت زمان حملات تونیک کلونیک در گروه کنترل  $1/53 \pm 0/1$  دقیقه بود و در گروه تحت استرس به  $1/29 \pm 0/5$  افزایش یافت. هرچند اختلاف معنی‌داری در تعداد دفعات این حملات بین دو گروه دیده نشد ( $P > 0/05$ ) ولی از نظر میانگین طول مدت زمان حملات، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده شد ( $P = 0/03$  - شکل شماره ۱، الف).

یکی از مهم‌ترین شاخص‌های رفتارهای صرعی که در این مطالعه همانند مطالعات مشابه بررسی شد، مقایسه طول مدت زمان تا تشدید یافتن علائم بین دو گروه بود. در مقایسه انجام شده میانگین مدت زمان تا تشدید یافتن علائم صرعی در حیوانات گروه کنترل  $41/25 \pm 8/1$  دقیقه بود که میانگین این زمان در گروه تحت استرس به  $22/4 \pm 3/7$  کاهش یافت و بررسی آماری اختلاف معنی‌داری را بین دو گروه نشان داد ( $p = 0/037$  - شکل ۱، ب).

میزان مرگ و میر در طول ۲ ساعت اول پس از تزریق پیلوکارپین در گروه کنترل دو مورد از ۱۴ مورد بود که معادل  $14/3$  درصد حیوانات می‌باشد. این در حالی است که در گروه تحت استرس پنج مورد از کل ۱۴ مورد رت معادل  $35/7$  درصد دچار مرگ و میر در این مدت زمان شدند. هرچند مقایسه میزان مرگ و میر بین دو گروه یک افزایش حدوداً  $20$  درصدی را در گروه تحت استرس نشان می‌داد ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود (شکل ۱، ج -  $P = 0/38$ , Fisher exact test).

#### نتایج غلظت کورتیکوسترون:

میانگین غلظت هورمون کورتیکوسترون در دوره بارداری و بعد از زایمان در حیوانات گروه کنترل و تحت استرس (نوزاد و مادر) مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاصله به شرح زیر می‌باشد:

نشانه‌های مراحل شش‌گانه رفتارهای صرعی پس از تزریق پیلوکارپین ( $150 \text{ mg/kg.s.c}$ ) در موش‌های صحرایی ۲۵ روزه. گروه کنترل دست نخورده بوده ولی گروه استرس فرزندان مادرانی بودند که در دوران حاملگی به مدت سه روز استرس بی حرکتی را تجربه کرده بودند.

مدت زمان طول کشیده از لحظه تزریق داروی پیلوکارپین تا شروع اولین رفتار صرعی بین دو گروه کنترل و تحت استرس مقایسه شد. میانگین این زمان در گروه کنترل  $5/35 \pm 0/57$  دقیقه بود ( $n = 14$ ) که در گروه تحت استرس به  $3/21 \pm 0/43$  دقیقه کاهش یافت ( $n = 14$ ). آنالیز آماری انجام شده یک اختلاف معنی‌دار بین دو گروه مطالعه را نشان داد (شکل ۱، الف، Mann-Whitney test,  $P = 0/01$ ).

بی حرکتی به عنوان اولین رفتار صرعی مشاهده شده در حیوانات، مورد ارزیابی قرار گرفت. در حیوانات تحت آزمایش تفاوت‌هایی در ماهیت این رفتار مشاهده شد به طوری که در گروه اقلیتی از حیوانات هر دو گروه، بی حرکتی رفتار غالب و شاید تنها رفتار صرعی بود و این حیوانات به مدت طولانی در فاز بی حرکتی باقی ماندند و به ندرت رفتار خاص دیگری نشان دادند (۲ مورد از ۱۴ مورد در موش‌های صحرایی گروه کنترل و ۳ مورد از ۱۴ مورد در موش‌های صحرایی گروه تحت استرس). ولی در اکثریت حیوانات باقی مانده این رفتار از نظر زمانی کوتاه‌تر بود و به‌طور متناوب در بین رفتارهای صرعی دیگر تکرار می‌شد. خلاصه نتایج مربوط به فاز بی حرکتی در هر دو گروه در جدول شماره ۱ آورده شده است.

به‌دنبال فاز بی حرکتی اکثر حیوانات هر دو گروه انواع متفاوتی از سایر رفتارهای صرعی از جمله حرکات تکرار شونده سر، روی دو پا ایستادن و افتادن، دراز کردن دم و غیره را نشان دادند که اطلاعات مربوط به این رفتارها در هر دو گروه در جدول شماره ۱ خلاصه و با یکدیگر مقایسه شده است. میانگین مدت زمان طول کشیده از تزریق پیلوکارپین تا بروز این رفتارهای صرعی در گروه کنترل  $20/42 \pm 1/8$  دقیقه و در گروه استرس  $14/64 \pm 1/9$  دقیقه بود که یک تفاوت معنی‌دار با  $p = 0/02$  را نشان می‌داد.

در بین رفتارهای صرعی حملات فوکال و حملات تونیک - کلونیک از جمله رفتارهایی بودند که مورد توجه بیشتری قرار گرفتند. در حملات فوکال حیوان استرس دیده به‌طور متناوب دچار حملات ریتیمیک و تکرارشونده در قسمتی از بدن و بطور بارزتری در اندام فوقانی خود شد. از نظر آماری میانگین تعداد

**جدول شماره (۲): نتایج سنجش مقدار کورتیکواسترون پلازما به روش رادیوایمیونواسی در موش‌های صحرایی مادر و نوزادان**

مرحله آزمایش	گروه	غلظت کورتیکواسترون بر حسب ng/ml (خطای معیار ± میانگین)	آزمون ANOVA
E18	کنترل- مادر	۴/۱۹ ± ۰/۵۴	P < 0.001 برای تمام گروه‌های مقایسه شده
	استرس- مادر	۱۴/۱ ± ۱/۸	
P2	کنترل- مادر	۳/۵۵ ± ۰/۴۷	
	استرس- مادر	۹/۹۹ ± ۰/۵	
	کنترل- فرزند	۰/۲۰ ± ۰/۵۹	
	استرس- فرزند	۵/۱۱ ± ۰/۲۵	
P6	کنترل- مادر	۱/۲۶ ± ۰/۲۰	
	استرس- مادر	۷/۴۰ ± ۰/۳۵	
	کنترل- فرزند	۰/۶۷ ± ۰/۳۲	
	استرس- فرزند	۲/۶۵ ± ۰/۴۳	

اساس این مطالعات تظاهر رفتارهای صرعی و مقیاس آن بسته به ماهیت، دوز مصرفی و نوع القاء عامل تشنج زا، سن، گونه و مداخلات انجام شده روی حیوان و شرایط آزمایشگاهی می‌تواند طیفی از یک رفتار ساده صرعی تا انواع تونیک کلونیک جنرال را در بر گیرد. در مطالعه حاضر ۲ راس از کل ۱۴ راس موش صحرایی گروه کنترل، و ۳ راس از کل ۱۴ راس موش صحرایی گروه استرس، در کل مدت ۱۲۰ دقیقه پایش در فاز بی حرکتی کامل بودند و به مراحل بعدی از مراحل شش‌گانه رفتارهای صرعی راه پیدا نکردند. هم‌چنین در اکثر موش‌های دیگر بدنبال فاز اولیه بی حرکتی مراحل پنج‌گانه بعدی بدون رعایت الگوی خاصی به طور دوره‌ای و متناوب تکرار شدند. بر اساس مطالعات انجام شده قبلی، نوع و ماهیت عامل تشنج زا، به علت تبعیت از مکانیسم‌های متفاوت درگیر در صرع تفاوت‌هایی را در زمان، ترتیب و شدت رفتارهای صرعی باعث می‌شوند (۱۹،۲۲). از آنجایی که تمام حیوانات تحت آزمایش در مطالعه ما ۲۵ روزه بودند و همه تحت تزریق با دوز و شرایط یکسانی از پیلوکارپین قرار داشتند، احتمال دارد تفاوت‌های جزئی فیزیولوژیک بین حیوانات مختلف خصوصاً تفاوت در زمان و مراحل تکامل مدارهای نورونی و ساختمان‌های مغزی آن‌ها منجر به تفاوت‌های واضحی در بروز رفتارهای صرعی آن‌ها و حساسیت آن‌ها به پیلوکارپین بشود و این‌که نوزادان گروه کنترل و گروه استرس در رفتارهای صرعی تفاوت نشان دادند، خود گواهی بر این مدعا است.

شاخص‌ترین یافته این تحقیق، تشدید رفتارهای صرعی در موش‌های استرس دیده در مقایسه با گروه کنترل است. در مطالعه حاضر رفتارهای صرعی توله‌های هر دو گروه (کنترل و استرس) از

میانگین غلظت هورمون کورتیکواسترون در دوره بارداری در مادر، و بعد بارداری در مادر و نوزادان. (E18) روز ۱۸ بارداری، (P2) روز دوم پس از زایمان، (P6) روز ششم پس از زایمان. نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که استرس دوران بارداری میزان هورمون کورتیکواسترون در دوره قبل و بعد از زایمان را در مادر نسبت به گروه کنترل افزایش می‌دهد. به همین ترتیب، استرس دوران بارداری میزان هورمون کورتیکواسترون در دوره‌های مختلف نوزادی را نسبت به گروه کنترل افزایش می‌دهد. همان‌طور که در جدول ۲ نیز قابل رویت است این افزایش هم در بین نوزادان دو گروه کنترل و استرس، و هم در مادران دو گروه کنترل و استرس طبق بررسی‌های آماری یک افزایش معنی‌دار را نشان می‌دهد (جدول ۲).

**بحث و نتیجه گیری**

اصلی‌ترین یافته ما در این تحقیق بیانگر این مطلب است که استرس دوران بارداری در موش‌های صحرایی می‌تواند رفتارهای صرعی فرزندان آن‌ها را تشدید نموده و همچنین غلظت پلاسمایی کورتیکواسترون آن‌ها را چندین برابر افزایش دهد. بررسی‌های رفتاری در این مطالعه نشان دادند که پارامترهایی مثل مدت زمان نهفته تا شروع اولین رفتار صرعی، زمان لازم برای بروز حداکثر تشنج و همچنین طول مدت زمان حملات تونیک - کلونیک در بین فرزندان گروه کنترل و استرس تفاوت‌های معنی‌داری دارند.

مطالعات قبلی، مقیاس و مراحل رفتارهای صرعی به‌دنبال القاء عامل تشنج زا را مشخص و رتبه بندی نموده‌اند (۱۹-۲۱). بر

انحراف فعالیت محور HPA در چندین حالت بالینی شدید از جمله صرع گزارش شده است (۱۳، ۲۸-۳۰) بر اساس مطالعات قبلی و همان طور که در بالا ذکر شد یکی از مهم ترین مسی‌رهای اجرای اثرات استرس می‌تواند مربوط به محور HPA باشد (۱۳، ۲۵). بعد از تماس اولیه با انواع مختلف استرسورها تغییرات پلاستیسیتهی نرونی در هر کدام از هسته‌های موجود در مدار HPA می‌تواند اتفاق بیافتد (۳۱، ۳۲). تماس طولانی مدت تر با استرسها می‌تواند منجر به تغییرات پاتولوژیک در مدارهای نرونی مربوطه شود و در نهایت منجر به فعالیت شدید و طولانی مدت این محور گردد. نتایج استخراج شده از مطالعه ما یک افزایش چند برابری (۳ تا ۵ برابر در بین مادران و ۲۵ تا ۴۰ برابر در بین نوزادان، جدول ۲) در غلظت هورمون کورتیکوسترون بدنبال استرس دوران بارداری را در هر دو گروه مادران و فرزندان نسبت به گروه بدون استرس نشان داد که با شواهد ذکر شده در بالا مطابقت دارد. هر چند که ما به علت محدودیت فنی نتوانستیم غلظت هورمون کورتیکوسترون را در زمان جنینی بسنجیم ولی تفاوت این هورمون در روز دوم و ششم بعد از تولد به روشنی بیانگر تماس این توله‌ها با استرس می‌باشد. از آنجا که محور HPA اولین سیستم هورمونی تشکیل شده در جنین است (۱۸، ۳۳-۳۶)، احتمال دارد که حداقل قسمتی از تفاوت‌های رفتاری مشاهده شده ناشی از پر کاری این سیستم هورمونی باشد.

با در نظر گرفتن مجموع این اطلاعات می‌توان نتیجه گیری کرد که استرس در موش‌های صحرایی باردار می‌تواند فعالیت محور HPA را تحت تاثیر قرار دهد (۲۶، ۱۴) که نه تنها منجر به فعالیت شدید و طولانی مدت این محور در مادر می‌گردد بلکه فعالیت این محور در نوزادان آن‌ها را نیز به طور مستقیم یا غیر مستقیم تحت تاثیر قرار دهد و شرایطی را به وجود آورد که مستعد کننده بعضی حالات پاتولوژیک از جمله صرع باشد (۱۳، ۲۸-۳۰). به علاوه استرس دوران بارداری ممکن است باعث تغییر در تکامل مغزی شود که منجر به ارتباطات نرونی غیرمعمول شده و اختلال عملکردی پایدار مغزی را ایجاد نماید (۲۷).

مطالعات مقایسه‌ای دقیق با استفاده از تیمیدین اتورادیوگرافی، نشان داده که تکامل ساختمان‌های مغزی در موش‌های صحرایی، به ویژه در مراحل اولیه جنینی، مشابه انسان است (۱۴). اگر این چنین باشد، با شاهد گرفتن نتایج تحقیق حاضر و تحقیقات مشابه احتمال دارد استرس‌های دوران بارداری در انسان‌ها نیز بتواند در پاتولوژی بیماری‌های نورولوژیک از جمله بروز رفتارهای صرعی در فرزندان آن‌ها دخالت داشته باشد. بدیهی است از یک سو تعمیم اثرات دیده شده در این مطالعه به دوران بارداری در انسان و از سوی دیگر کشف جزئیات مدارهای نورونی

نظر تعداد، فرکانس بروز رفتار و طول مدت هر رفتار به دنبال تزریق پیلوکارپین مورد بررسی قرار گرفته است. در اکثر رفتارهای مورد مطالعه، طول مدت هر رفتار و دفعات تکرار آن در گروه استرس نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. از طرف دیگر، طول مدت زمان نهفته تا بروز رفتارها و طول مدت به حداکثر رسیدن علائم در گروه تحت استرس در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته است که این یافته‌ها همگی بیانگر تشدید رفتارهای صرعی و بروز سریع تر آن‌ها در گروه استرس دیده می‌باشند.

در مدل‌های مختلف صرع تجربی انواع مختلف استرسها می‌توانند میزان پاسخ‌دهی حیوان به داروهای ضد صرعی را تحت تاثیر قرار دهد (۲۳، ۲۴). در تایید این گزارشات آمده است که قرار گرفتن موش‌های صحرایی در معرض انواع مختلف استرسورهای حاد مثل محرک‌های دردناک آستانه ایجاد تشنج‌های القایی با لیتیموم - پیلوکارپین را پایین می‌آورد (۲۵). قرار گرفتن در معرض شرایط پر استرس می‌تواند به تغییرات عمیق در خصوصیات الکتریکی نرون‌ها منجر شود که به نوبه خود می‌تواند باعث افزایش حساسیت نرونی برای القاء فعالیت‌های صرعی و تغییر آسیب پذیری نرون‌های هیپوکامپ در بسیاری از شرایط نورولوژیک باشد (۱۳). برخلاف مطالعات ذکر شده بالا که به بررسی تاثیر استرس مستقیم روی صرع در حیوانات تحت استرس متمرکز بودند، در مطالعه حاضر تاثیر استرس غیرمستقیم دوران بارداری در پارامترهای رفتارهای صرعی نوزادان آن‌ها مد نظر قرار گرفته که در نوع خود مطالعه بدیع و منحصر به فردی است. گزارشات قبلی نشان داده‌اند که استرس دوران بارداری می‌تواند به عنوان یک فاکتور بالقوه در ایجاد یا مستعد کردن شرایط برای بعضی از بیماری‌های نورولوژیک مطرح باشد (۳۰، ۲۹، ۲۸). اثر طولانی مدت استرس می‌تواند به تغییر فعالیت محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال (HPA) مربوط باشد (۲۶، ۱۴) یا تکامل مغزی و مدارهای نورونی آن‌ها را تحت تاثیر قرار دهد و با ایجاد مدارهای نورونی غیر معمول باعث اختلال ماندگار در فعالیت مغز شده و اختلال عملکردی پایدار مغزی را ایجاد نماید (۲۷). در تایید احتمالات مطرح شده، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استرس دوران بارداری آستانه بروز رفتارهای صرعی در توله‌های مادران تحت استرس را پایین می‌آورد، آن‌ها را تحریک پذیرتر می‌نماید و رفتارهای صرعی آن‌ها را تشدید می‌کند. به طوری که مدت زمان نهفته برای بروز رفتارهای صرعی و همچنین مدت زمان لازم تا تشنج حداکثر هر دو، در فرزندان تحت استرس نسبت به گروه کنترل کاهش یافتند و این در حالی است که این بروز سریع تر با تشدید یافتن رفتارهای صرعی در هر دو مقوله تعداد حملات و طول مدت حمله همراه بوده است.

می‌تواند رهگشا و پایه‌ای برای مطالعات آینده برای نیل به این هدف باشد.

### تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه که امکانات لازم برای این تحقیق را فراهم نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

مسئول در این پروسه و با سایر مکانیسم‌های احتمالی درگیر که بتواند ارتباط استرس بارداری و صرع را توجیه نماید، تحقیقات بیشتری را در این زمینه می‌طلبد. از آنجایی که صرع به خاطر ماهیت غیر قابل پیش بینی و مخربش یک بیماری جدی و تهدید کننده حیات بشمار می‌رود تمام تدابیر پیش گیری کننده یا تخفیف دهنده علایم آن می‌تواند مهم و مفید باشد و تحقیق حاضر

### References:

- Pitkanen A, Kharatishvili I, Karhunen H, Lukasiuk K, Immonen R, Nairismagi J, et al. Epileptogenesis in experimental models. *Epilepsia*. 2007;48 Suppl 2:13-20.
- Morimoto K, Fahnstock M, Racine RJ. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Prog Neurobiol*. 2004 May;73(1):1-60.
- Benardo LS. Prevention of epilepsy after head trauma: do we need new drugs or a new approach? *Epilepsia*. 2003;44 Suppl 10:27-33.
- Pitkanen A, Tuunanen J, Kalviainen R, Partanen K, Salmenpera T. Amygdala damage in experimental and human temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 1998;32:233-53.
- Wieser H. Mesial temporal lobe epilepsy versus amygdalar epilepsy: late seizure recurrence after initially successful amygdalotomy and regained seizure control following hippocampectomy. *Epileptic Disord*. 2000;2:141-52.
- Sah P, Faber ES, Lopez De Armentia M, Power J. The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiol Rev*. 2003 Jul;83(3):803-34.
- Moshe S, Shilo M, Chodick G, Yagev Y, Blatt I, Korczyn AD, et al. Occurrence of seizures in association with work-related stress in young male army recruits. *Epilepsia*. 2008 Aug;49(8):1451-56.
- Puskarich CA, Whitman S, Dell J, Hughes JR, Rosen AJ, Hermann BP. Controlled examination of effects of progressive relaxation training on seizure reduction. *Epilepsia*. 1992 Jul-Aug;33(4):675-80.
- Wiener P. Neuroactive steroids, relaxation, and seizure control. *Int J Neurosci*. 2003 May;113(5):631-39.
- Christensen J, Li J, Vestergaard M, Olsen J. Stress and epilepsy: a population-based cohort study of epilepsy in parents who lost a child. *Epilepsy Behav*. 2007 Nov;11(3):324-28.
- Lathers CM, Schraeder PL. Stress and sudden death. *Epilepsy Behav*. 2006 Sep;9(2):236-42.
- Iancu I, Rosen Y, Moshe K. Antiepileptic drugs in posttraumatic stress disorder. *Clin Neuropharmacol*. 2002 Jul-Aug;25(4):225-29.
- Galic M, Fournier N, Martin L. Alpha2-adrenergic inhibition prevents the accompanied anticonvulsant effect of swim stress on behavioral convulsions induced by lithium and ilocarpine. *Pharmacol Biochem Behav Brain Res*. 2004;279:309-16.
- Weinstock m. Alterations induced by gestational stress in brain morphology and behaviour of the offspring. *Progress in Neurobiology* [review]. 2001;65: 427-51.
- Reddy DS, Rogawski MA. Stress-induced deoxycorticosterone-derived neurosteroids modulate GABA(A) receptor function and seizure susceptibility. *J Neurosci*. 2002 May 1;22(9):3795-805.
- Reddy DS. The clinical potentials of endogenous neurosteroids. *Drugs Today (Barc)*. 2002 Jul;38(7):465-85.
- Reddy DS. Physiological role of adrenal deoxycorticosterone-derived neuroactive steroids

- in stress-sensitive conditions. *Neuroscience*. 2006;138(3):911-20.
18. Heshmatian B, Roshan-Milani S, Saboory E. Prenatal acute stress attenuated epileptiform activities in neonate mice. *Yakhteh medical journal*. [original]. 2010;12(1).
  19. Samland H, Huitron-Resendiz S, Masliah E, Criado J, Henriksen SJ, Campbell IL. Profound increase in sensitivity to glutamatergic- but not cholinergic agonist-induced seizures in transgenic mice with astrocyte production of IL-6. *J Neurosci Res*. 2003 Jul 15;73(2):176-87.
  20. Hwang JJ, Lee SJ, Kim TY, Cho JH, Koh JY. Zinc and 4-hydroxy-2-nonenal mediate lysosomal membrane permeabilization induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in cultured hippocampal neurons. *J Neurosci*. 2008 Mar 19;28(12):3114-122.
  21. Steward O, Kelley MS, Schauwecker PE. Signals that regulate astroglial gene expression: induction of GFAP mRNA following seizures or injury is blocked by protein synthesis inhibitors. *Exp Neurol*. 1997 Nov;148(1):100-9.
  22. Velisek L, Moshe SL. Effects of brief seizures during development. *Prog Brain Res*. 2002;135:355-64.
  23. Rutecki PA, Lebeda FJ, Johnston D. Epileptiform activity in the hippocampus produced by tetraethylammonium. *J Neurophysiol*. 1990 Oct;64(4):1077-88.
  24. Onozuka M, Imai S, Ozono S. The 70-kDa epileptic cortical protein elicits bursting activity accompanied by a reduction of outward current in Euhadra neurons which is inhibited by an antibody against this protein. *Brain Res*. 1990 Oct 29;531(1-2):276-79.
  25. Fournier NM, Galic MA, Kalynchuk LE, Persinger MA. Profound hypothermia determines the anticonvulsant and neuroprotective effects of swim stress. *Brain Res*. 2008 Nov 13;1240:153-64.
  26. Van den Bergh BR, Mulder EJ, Mennes M, Glover V. Antenatal maternal anxiety and stress and the neurobehavioural development of the fetus and child: links and possible mechanisms. A review. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005 Apr;29(2):237-58.
  27. Rangon CM, Fortes S, Lelievre V, Leroux P, Plaisant F, Joubert C, et al. Chronic mild stress during gestation worsens neonatal brain lesions in mice. *J Neurosci*. 2007 Jul 11;27(28):7532-540.
  28. Lee MC, Shim JJ, Kim JH, Kim MK, Woo YJ, Chung WK, et al. Upregulation of glutamate receptors in rat cerebral cortex with neuronal migration disorders. *J Korean Med Sci*. 2004 Jun;19(3):419-25.
  29. Trollmann R, Schneider J, Keller S, Strasser K, Wenzel D, Rascher W, et al. HIF-1-regulated vasoactive systems are differentially involved in acute hypoxic stress responses of the developing brain of newborn mice and are not affected by levetiracetam. *Brain Res*. 2008 Mar 14;1199:27-36.
  30. Andre VM, Flores-Hernandez J, Cepeda C, Starling AJ, Nguyen S, Lobo MK, et al. NMDA receptor alterations in neurons from pediatric cortical dysplasia tissue. *Cereb Cortex*. 2004 Jun;14(6):634-46.
  31. Bocti C, Robitaille Y, Diadori P, Lortie A, Mercier C, Bouthillier A, et al. The pathological basis of temporal lobe epilepsy in childhood. *Neurology*. 2003 Jan 28;60(2):191-95.
  32. Mercier S, Frédéric, Canini, Buguet A, Cespuglio R, Martin S, et al. Behavioural changes after an acute stress: stressor and test types influences. *Behav Brain Res*. [original ]. 2003; 139(1-2):167-75.
  33. Braga MF, Aroniadou-Anderjaska V, Manion ST, Hough CJ, Li H. Stress impairs alpha(1A) adrenoceptor-mediated noradrenergic facilitation of GABAergic transmission in the basolateral



- amygdala. *Neuropsychopharmacology*. 2004 Jan;29(1):45-58.
34. Mairesse J, Viltart O, Salome N, Giuliani A, Catalani A, Casolini P, et al. Prenatal stress alters the negative correlation between neuronal activation in limbic regions and behavioral responses in rats exposed to high and low anxiogenic environments. *Psychoneuroendocrinology*. 2007 Aug;32(7):765-76.
35. Chadda R, Devaud LL. Differential effects of mild repeated restraint stress on behaviors and GABAA receptors in male and female rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2005;81 854-63.
36. Viltart O, Mairesse J, Darnaudery M, Louvart H, Vanbesien-Mailliot C, Catalani A, et al. Prenatal stress alters Fos protein expression in hippocampus and locus coeruleus stress-related brain structures. *Psychoneuroendocrinology*. 2006 Jul;31(6):769-80.