

## بررسی اثر محافظتی آستاگزانتین بر اثرات منفی لیپوپلی ساکاریدهای (LPS) باکتریایی اعمال شده در دوران پیش از تولد بر رفتارهای مادرانه و تغییرات نورونی در زاده های نر بالغ موش های نژاد NMRI

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۳۰

### چکیده

**زمینه و هدف:** مواجهه با لیپوپلی ساکاریدهای باکتریایی در دوران جنینی، منجر به آسیب مغزی و گنادی می‌شود. هدف این مطالعه، بررسی اثر محافظتی آستاگزانتین بر اثرات نامطلوب لیپوپلی ساکاریدهای باکتریایی اعمال شده در دوران جنینی بر روی رفتارهای مادرانه، وزن، قد و تغییرات نورونی هیپوتالاموس در زاده های نر بالغ موش های نژاد NMRI می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** موش های ماده باردار به ۴ گروه تقسیم شدند. (۱) مادران کنترل: فقط آب مقطر را در روز ۱۱ بارداری به صورت گاوآژ دریافت کردند. (۲) مادران حامله دریافت کننده LPS: در روز ۱۱ بارداری LPS با دوز  $20 \mu\text{g/kg}$  به صورت زیر جلدی دریافت کردند. (۳) مادران حامله دریافت کننده AST: در روزهای ۱۱، ۱۲، ۱۳ بارداری آستاگزانتین را با دوز  $5 \text{ mg/kg}$  به صورت گاوآژ دریافت کردند. (۴) مادران حامله دریافت کننده LPS + AST: در روزهای ۱۱، ۱۲، ۱۳ بارداری آستاگزانتین را با دوز  $5 \text{ mg/kg}$  به صورت گاوآژ دریافت کردند. همچنین در روز ۱۱ حاملگی، LPS را با دوز فوق، ۱ ساعت و نیم بعد از گاوآژ آستاگزانتین دریافت کردند. سپس بعد از به دنیا آمدن فرزندان، رفتار مادرانه برای ۳ روز و قد، وزن اندازه گیری شد. علاوه بر این، پس از روز ۶۰، هیپوتالاموس فرزندان جهت مطالعه تغییرات نورونی بررسی شد.

**یافته ها:** آستاگزانتین موجب بهبود معنی دار رفتارهای مادرانه نشد و بر قد و وزن فرزندان نیز اثری نداشت در صورتی که موجب افزایش تعداد نوروں های هیپوتالاموس در فرزندان گردید.

**نتیجه گیری:** آستاگزانتین دارای اثرات محافظت عصبی می‌باشد که احتمالاً از طریق خاصیت آنتی اکسیدانی عمل می‌نماید.

**کلمات کلیدی:** آستاگزانتین، لیپوپلی ساکارید باکتریایی، رفتار مادرانه، موش نژاد NMRI

الهه غلامی رودمعجنی<sup>۱</sup>، مهدی گودرزوند<sup>۲</sup>، نسیم حیاتی رودباری<sup>۱</sup>، کاظم پربور<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی دکتری زیست شناسی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران

<sup>۲</sup>دانشیار فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، البرز، ایران

<sup>۳</sup>دانشیار زیست شناسی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

استاد زیست شناسی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

### نویسنده مسئول:

دانشیار فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، البرز، ایران

۰۹۱۲۵۶۴۴۶۲۰

Email: m.godarzvand@abzums.ac.ir

## مقدمه

رشد جنین و شکل گیری اندامها و دستگاه های بدن یک فرآیند حساس و بسیار دقیق است که با بیان متوالی و برنامه ریزی شده ژن ها، تولید پروتئین ها و تقسیم و مهاجرت سریع و هدفمند سلول ها روی می دهد. هر نوع تنش و استرسی که به مادر حامله، در مرحله رشد جنین، وارد می شود ممکن است رشد بخش های متفاوتی از دستگاه های مختلف بدن جنین را تحت تاثیر قرار بدهد و در آینده اثرات مخربی را روی فرد متولد شده نشان دهد.<sup>۱</sup> آلودگی های میکروبی و ویروسی که وارد بدن مادر می شود ممکن است واکنش های ایمنولوژیک مادر را در پی داشته باشد و یا اینکه اجزای میکروبی مستقیماً با عبور از جفت وارد بدن جنین شود.<sup>۲</sup> قرار گرفتن مادر حامله در معرض میکروبها یا آنتی ژن های باکتریایی امری بسیار محتمل است و در طول ۹ ماه بارداری ممکن است چندین بار مادر حامله و جنین در حال رشد تحت تاثیر عوامل میکروبی و استرسی های ایمنولوژیک قرار بگیرند.<sup>۳</sup>

لیپوپلی ساکاریدهای باکتریایی به عنوان آندوتوکسین باکتریایی موجود در دیواره باکتری های گرم منفی یکی از آنتی ژن های معمول در ایجاد مدل جانوری التهاب های باکتریایی می باشد.<sup>۴</sup> قرار گرفتن در معرض لیپوپلی ساکارید قبل از زایمان باعث افزایش سطح سیتوکین ها و گلوکوکورتیکوئیدها در مغز جنین می شود.<sup>۶</sup> مطالعات قبلی نقش منفی لیپوپلی ساکارید باکتریایی در دوران حاملگی را بر روی رشد دستگاه تولید مثلی جنین و اختلالات بچه به دنیا آمده پس از بلوغ نشان داده است.<sup>۷، ۸، ۹</sup> از طرفی آغاز فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد با تکوین نوروها و شکل گیری و تعیین جنسیت، از موارد مهمی می باشند که شدیداً در دوران تکوین تحت تاثیر فاکتورهای التهابی قرار می گیرد.<sup>۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳</sup>

با توجه به محدودیت های مصرف داروی های شیمیایی در طی بارداری، ترکیبات طبیعی یکی از راه حل های مورد توجه، جهت گذراندن یک دوره حاملگی بی خطر و پرورش جنینی سالم می باشد.<sup>۹</sup> آستاگزانتین یک کاروتنوئید از گروه گزانتوفیل است که در انواع مختلفی از میکروارگانسیمها و موجودات دریایی یافت می شود و اثرات بیولوژیکی قوی تری نسبت به سایر کاروتنوئیدها دارد.<sup>۱۴</sup> این ترکیب اثرات حفاظتی در برابر صدمات اولیه مغز، از طریق

سرکوب التهابات مغزی، از خود نشان داده است.<sup>۱۵</sup> و<sup>۱۶</sup> از این رو، هدف این مطالعه بررسی اثر محافظتی آستاگزانتین بر اثرات منفی لیپوپلی ساکاریدهای (LPS) باکتریایی اعمال شده در دوران پیش از تولد، بر رفتارهای مادرانه و تغییرات نورونی در زاده های نر بالغ موش های نژاد NMRI بود.

## مواد و روش ها

### حیوانات

در این مطالعه اصیل ۳۲ سر موش نژاد NMRI با محدوده وزنی ۳۰ گرم از انستیتو پاستور ایران تهیه و سپس در قفس های چهارتایی تحت شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در محدوده دمایی بین ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت نرمال، در اتاق حیوانات دانشگاه علوم پزشکی البرز نگهداری شدند. کلیه جانوران دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند و حداقل ۱۰ روز پس از آداپتاسیون به محیط، تستها شروع گردید.

### جفت گیری و گروه های مورد مطالعه

جهت جفت گیری موش های ماده، به مدت ۴ روز در هر قفس ماده، یک موش نر قرار داده شد و روز بعد جهت اطمینان از جفت گیری پلاک واژینال چک شد. سپس موش های ماده به ۴ گروه تقسیم شدند. (۱) مادران کنترل: این گروه فقط آب مقطر استریلیزه را در روز ۱۱ بارداری به میزان ۲۰۰ لاندا به صورت گاوآژ دریافت کردند. (۲) مادران دریافت کننده LPS: مادران حامله LPS حل شده با آب مقطر استریلیزه را در روز ۱۱ بارداری که مرحله مهمی از نظر شروع جهت یابی جنسی جنین های نر می باشد با دوز ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن به میزان ۱۰۰ لاندا به صورت زیر جلدی دریافت کردند.<sup>۱۷</sup>

(۳) مادران دریافت AST: موش های باردار به مدت ۳ روز، ۱۱، ۱۲، ۱۳ بارداری آستاگزانتین حل شده با آب مقطر استریلیزه را با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به میزان ۲۰۰ لاندا و به صورت گاوآژ دریافت کردند.<sup>۱۸</sup>

(۴) مادران دریافت کننده LPS+AST: موش های باردار به مدت ۳ روز، ۱۱، ۱۲، ۱۳ بارداری آستاگزانتین را با دوز ۵ میلی گرم

آبگیری با الکل، شفاف سازی با زایلین، آغشته سازی با پارافین، قالب گیری با استفاده از پارافین مذاب، برش کرومال ۱۰ میکرونی بافت مغز با دستگاه میکروتوم، چسباندن مقاطع بافتی بر روی لام با چسب آلومین و سپس انجام مراحل زیر جهت رنگ آمیزی کریزل و یوله بود.

پارافین زدایی لامها با استفاده از سه ظرف زایلین به مدت ۳ دقیقه، آبدهی با استفاده از الکل مطلق با درجات نزولی به مدت ۲ دقیقه، سپس قرار دادن لامها به مدت ۲۰-۱۰ دقیقه در رنگ کریزل و یوله، زدودن رنگ اضافی با اسید الکل به مدت ۱۰ ثانیه، شستشوی لامها با آب جاری به مدت ۲ دقیقه، آبگیری با درجات صعودی الکل ۷۰ درصد به مدت ۲ دقیقه، شفاف نمودن لامها به وسیله زایلین، به مدت ۳ دقیقه، چسب زدن لامها با یک قطره چسب اتلان، قرار دادن یک لامل با زاویه ۴۵ درجه و نهایتاً مشاهده ناحیه هیپوتالاموس دو نیمکره با میکروسکوب نوری.<sup>۱۹</sup>

### آنالیز آماری

به منظور آنالیزهای آماری از نرم افزار SPSS Version 25 استفاده شد. ابتدا برای تایید نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگراف-سمیرنوف استفاده شد. سپس از تست ANOVA یک طرفه با پس آزمون Tukey استفاده شد. در تمامی آزمونها مقادیر P Value کمتر از ۰/۰۵ به عنوان مقادیر دارای ارزش آماری در نظر گرفته شد. سپس نمودارها با استفاده از نرم افزار گراف پد رسم گردید.

### یافته ها

در پژوهش حاضر از موش های نژاد NMRI به منظور بررسی تاثیرات LPS و AST استفاده شد. سپس رفتارهای مادرانه، قد و وزن نوزادان بعد از تولد، بررسی بافتی مغز انجام شد.

### بررسی رفتارهای مادرانه

مقایسه شیر دادن (Nursing) بین گروه کنترل و سایر گروهها در موش های مادر نژاد NMRI

بر کیلوگرم وزن بدن به میزان ۲۰۰ لاندا به صورت گاوآژ دریافت کردند. در روز ۱۱ حاملگی علاوه بر آستاگزانتین، LPS را با دوز ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن به میزان ۱۰۰ لاندا، ۱ ساعت و ۳۰ دقیقه بعد از گاوآژ آستاگزانتین دریافت کردند.

### بررسی وزن و قد فرزندان

پس از سپری شدن دوران بارداری، زایمان انجام شد. وزن بر حسب گرم و قد بر حسب سانتی متر در هر گروه اندازه گیری شد.

### بررسی رفتارهای مادرانه

رفتارهای مادرانه در روزهای ۵، ۱۰، ۱۵ بررسی شد. جهت بررسی رفتار مادرانه با استفاده از یک دوربین مدار بسته رفتارهای مادرانه ثبت شد. رفتار مادرها در دو دوره ۶۰ دقیقه ای، ساعت ۹ صبح و ۴ بعد از ظهر ثبت و بررسی شد. در هر دوره به فاصله زمانی ۳ دقیقه، در مجموع ۱۲۰ مشاهده (رفتار) ثبت شد. پارامترهای رفتاری مادرانه شامل شیر دادن (Nursing)، لیس زدن (Licking)، تمیز کردن فرزندان (Grooming)، نظافت شخصی (Self-grooming)، تغذیه و آشامیدن (Food and water) و تماس با فرزندان (No contact) بود. مجموع مشاهدات برای ارزیابی درصد مشاهدات هر یک از انواع رفتارهای بالا مورد استفاده قرار گرفت.

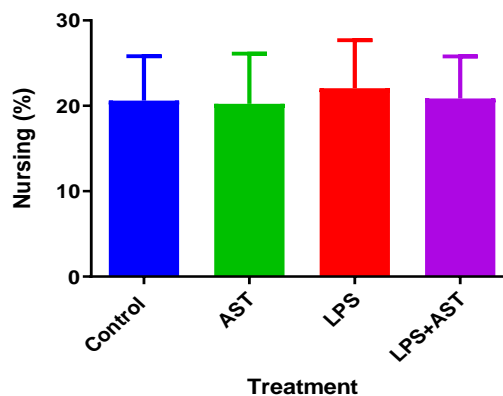
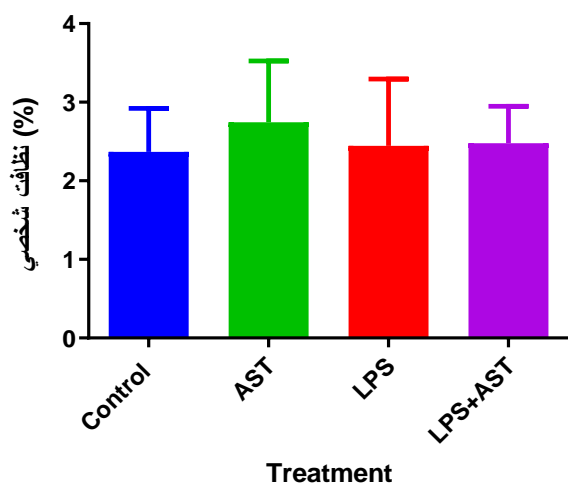
$$۱۰۰ \times \frac{\text{یک رفتار}}{\text{مجموع رفتارها}}$$

### مراحل آماده سازی بافت مغز برای رنگ آمیزی نیسل (کریزول و یوله)

برای رنگ آمیزی برش های بافتی مغز از رنگ آمیزی نیسل استفاده شد. هدف از این رنگ آمیزی بررسی ریبوزوم های شبکه آندوپلاسمی خشن در سلول های عصبی است.

پس از خارج کردن بافت مغز، برای تثبیت در محلول پارافمالدئید ۱۰ درصد برای ۴۸ ساعت قرار داده شد. پس از تثبیت، نمونه‌ها وارد مراحل پاساژ بافتی با استفاده از دستگاه اتوتکنیکن به مدت زمانی ۱۷ ساعت قرار گرفتند که به طور خلاصه به ترتیب شامل

نتایج حاصل از رفتار مادرانه شیر دادن حاکی از عدم اختلاف معنی دار بین گروه های LPS و LPS+AST بود (شکل ۱). (n=۸)



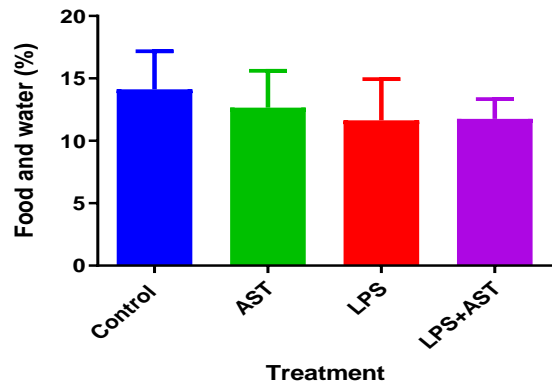
شکل ۱: مقایسه شیر دادن بین گروه های LPS و LPS+AST. اختلاف معنی داری را نشان نداد. داده ها به صورت Mean±SE نمایش داده شده است (n=۸).

شکل ۲: مقایسه رفتار مادرانه نظافت شخصی بین گروه های LPS و LPS+AST. اختلاف معنی داری را نشان نداد. داده ها به صورت Mean±SE نمایش داده شده است (n=۸).

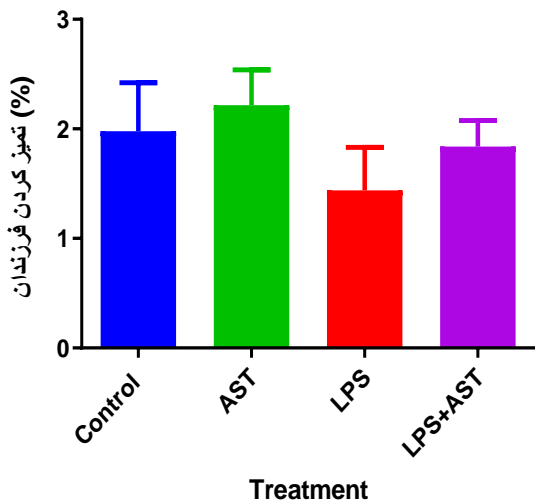
مقایسه آب و غذا دادن (Food & water) بین گروه کنترل، LPS، AST و LPS+AST در موش های مادر نژاد NMRI. نتایج حاصل از رفتار مادرانه آب و غذا دادن حاکی از عدم اختلاف معنی دار بین گروه های LPS و LPS+AST بود (شکل ۳). (n=۸)

مقایسه نظافت شخصی (Self-grooming) بین گروه کنترل، LPS، AST و LPS+AST در موش های مادر نژاد NMRI. نتایج حاصل از رفتار مادرانه نظافت شخصی حاکی از عدم اختلاف معنی دار بین گروه های LPS و LPS+AST بود (شکل ۲). (n=۸)

شکل ۴: مقایسه رفتار مادرانه عدم تماس با فرزندان بین گروه های LPS و LPS+AST اختلاف معنی داری را نشان نداد. داده ها به صورت Mean±SE نمایش داده شده است (n=۸).

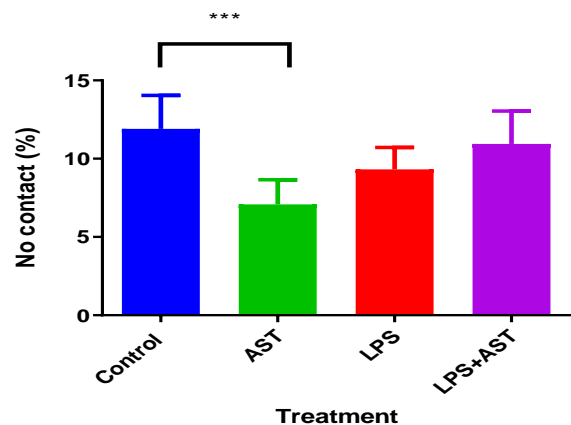


مقایسه تمیز کردن فرزندان (Grooming) بین گروه کنترل، LPS، AST و LPS+AST موش های مادر نژاد NMRI نتایج حاصل از رفتار مادرانه تمیز کردن فرزندان حاکی از عدم اختلاف معنی دار بین گروه های LPS و LPS+AST بود (n=۸) (شکل ۵).



شکل ۳: مقایسه رفتار مادرانه آب و غذا دادن بین گروه های LPS و LPS+AST اختلاف معنی داری را نشان نداد. داده ها به صورت Mean±SE نمایش داده شده است (n=۸).

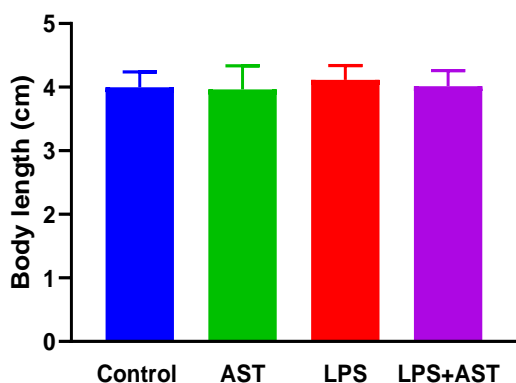
مقایسه عدم تماس با فرزندان (No contact) بین گروه کنترل، LPS، AST و LPS+AST در موش های مادر نژاد NMRI نتایج حاصل از رفتار مادرانه عدم تماس با فرزندان حاکی از عدم اختلاف معنی دار بین گروه های LPS و LPS+AST بود (n=۸) اما دریافت AST موجب کاهش معنی دار نسبت به گروه کنترل شد (P<0.001) (شکل ۶).



شکل ۵: مقایسه رفتار مادرانه تمیز کردن فرزندان بین گروه های LPS و LPS+AST اختلاف معنی داری را نشان نداد. داده ها به صورت Mean±SE نمایش داده شده است (n=۸).

مقایسه لیس زدن فرزندان (Licking) بین گروه کنترل، LPS، AST و LPS+AST در موش های مادر نژاد NMRI نتایج به دست آمده نشان داد که میزان لیس زدن فرزندان بین گروه های LPS و LPS+AST فاقد نتایج معنی دار بود (n=۸) (شکل ۶).

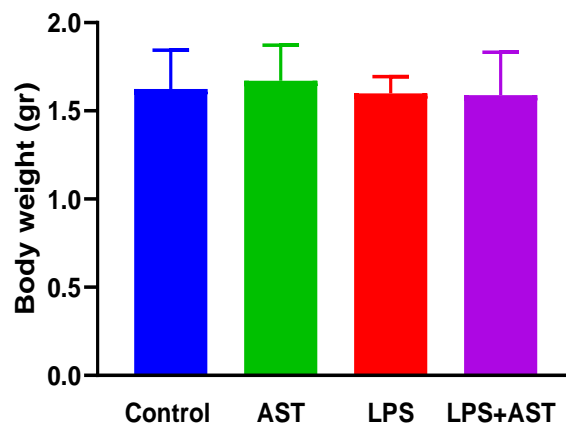
مقایسه وزن فرزندان (Body weight) بین گروه کنترل، LPS



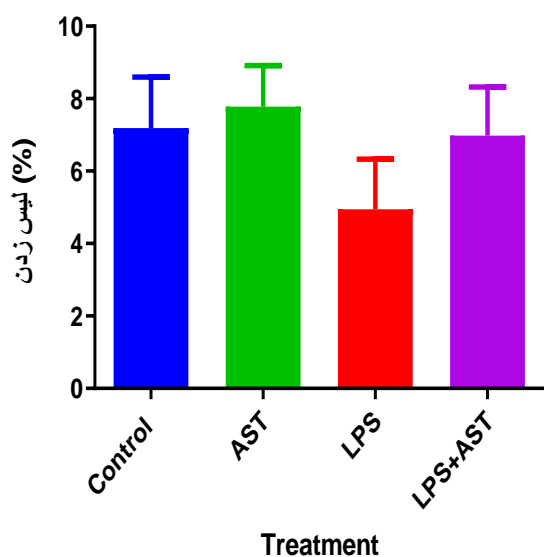
شکل ۷: مقایسه وزن فرزندان بین گروه های LPS و LPS+AST. اختلاف معنی داری را نشان نداد. داده‌ها به صورت  $Mean \pm SE$  نمایش داده شده است (n=۸).

#### AST، LPS+AST در موش های بالغ نر نژاد NMRI

نتایج به دست آمده نشان داد که میزان وزن فرزندان بین گروه های LPS و LPS+AST فاقد نتایج معنی دار بود (n=۸) (شکل ۷).



شکل ۶: مقایسه رفتار مادرانه لیس زدن فرزندان بین گروه های LPS و LPS+AST. اختلاف معنی داری را نشان نداد. داده‌ها به صورت  $Mean \pm SE$  نمایش داده شده است (n=۸).



مقایسه قد (Length) فرزندان بین گروه کنترل، LPS،

#### AST، LPS+AST در موش های بالغ نر نژاد NMRI

نتایج به دست آمده نشان داد که میزان وزن فرزندان بین گروه های LPS و LPS+AST فاقد نتایج معنی دار بود (n=۸) (شکل ۸).

شکل ۸: مقایسه قد فرزندان بین گروه های LPS و LPS+AST. اختلاف معنی داری را نشان نداد. داده‌ها به صورت  $Mean \pm SE$  نمایش داده شده است (n=۸).

نتایج حاصل از رنگ آمیزی نیسل نشان از افزایش فعالیت نورونی در ناحیه هیپوتالاموس مغز می‌باشد.

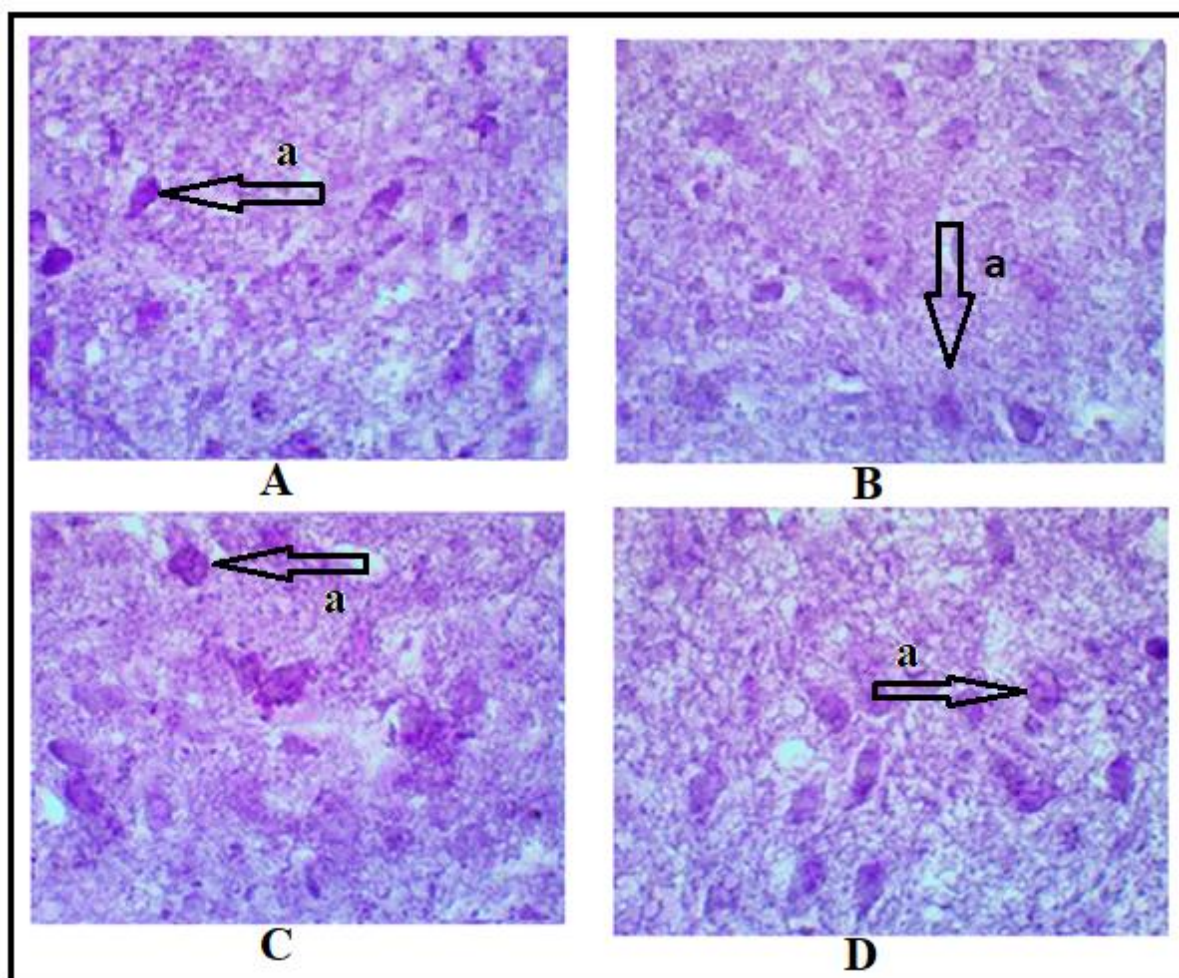
بارداری، ترکیبات طبیعی یکی از راه حل های مورد توجه، جهت گذراندن یک دوره حاملگی بی خطر و پرورش جنینی سالم می باشد.<sup>۹</sup> در این مطالعه اثر آستاگزانتین بر اثرات سوء LPS باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت. بدنبال مواجهه مادران در طی بارداری با LPS، آستاگزانتین نتوانست رفتارهای مادرانه و وزن و قد فرزندان را بهبود بخشد اما توانست تعداد و فعالیت نورونی در هیپوتالاموس مغز را افزایش دهد.

در پژوهش حاضر اثرات استرس اکسیداتیو القا شده ناشی از تزریق LPS به گونه ای نبود که رفتار مادرانه را دچار تغییر نماید. زیرا که تغییر رفتار نیاز به فعال شدن مکانیسم های عصبی متعدد و زمان است، هر چند که بر روی رفتار جنسی فرزندان موثر بود (داده های چاپ شده). با توجه به دوز LPS استفاده شده، احتمالاً ترشح سیتوکین های التهابی پس از تزریق LPS به حدی نبوده است که موجب تغییر رفتار در مادران شود. *Ic Xuan* و همکارانش در سال ۲۰۱۴ اثرات LPS با دوز ۷۵ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز<sup>۱۱</sup> و<sup>۱۲</sup> بارداری تحقیق کردند سپس رفتار مادرانه نظافت شخصی را در ۵ دقیقه بررسی کردند و عنوان کردند که LPS باعث کاهش این رفتار شده است.<sup>۲۰</sup> بنابراین احتمالاً تغییر در نوع رفتار مادرانه ارتباط با دوز، زمان تزریق، مدت زمان اندازه گیری LPS و نوع تست دارد. مطالعات زیادی نشان داده است که سیتوکین های التهابی باعث تغییر و اختلال در تعداد و مهاجرت نورون های ترشح کننده GnRH در هیپوتالاموس می شود. از طرفی آغاز فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز - گناد با تکوین نورون ها و بیان ژن GnRH در هیپوتالاموس همراه است.

تصاویر حاصل از رنگ آمیزی نیسل نشان دهنده این است که سلول های نورونی در گروه کنترل دارای اندازه و فعالیت طبیعی می باشند. در گروه LPS نورون ها به مراتب کوچکتر و فعالیت کمتری دارند و به لحاظ تعداد نیز کمتر می باشند در صورتی که در گروه LPS+AST نسبت به گروه LPS تفاوت معنی داری مشاهده شد (شکل ۹).

## بحث

دوران بارداری دوران حساسی است که استرس ها و مواد خوراکی و عوامل بیماریزای مختلف در طی آن می توانند رشد جنین و سلامت مادر و جنین را تحت تاثیر قرار بدهد. هر نوع تنش و استرسی که به مادر حمله وارد می شود در مرحله رشد جنین ممکن است رشد بخش های متفاوتی از دستگاه های مختلف بدن جنین را تحت تاثیر قرار بدهد و در آینده اثرات مخربی را روی فرد متولد شده نشان دهد.<sup>۱</sup> استرس هایی مثل استرس های روانی، سوء تغذیه، آلودگی محیط و عفونت های میکروبی که تقریباً همه آنها یا به طور مستقیم و یا با فعال کردن سیستم های ضد استرس و اضطراب بدن مادر مثل محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-قشر فوق کلیه و افزایش هورمون های گلوکوکورتیکوئید رشد جنین و تکوین دستگاه عصبی جنین را تحت تاثیر قرار می دهند. قرار گرفتن در معرض آندوتوکسین لیپوپلی ساکاریدی قبل از زایمان باعث افزایش سطح سیتوکین ها و گلوکوکورتیکوئیدها در مغز جنین می شود.<sup>۶</sup> با توجه به محدودیت های مصرف داروهای شیمیایی در طی



**شکل ۹:** بررسی مقایسه ای تصاویر میکروسکوپی بافت هیپوتالاموس مغز در گروه های مختلف، با استفاده از رنگ آمیزی نیسل. در گروه LPS نوروها به مراتب کوچکتر و فعالیت کمتری دارند. در گروه LPS+AST هسته ها فعال تر، بزرگتر، و نوروها تعداد بیشتری هستند. A: گروه کنترل، B: گروه LPS، C: گروه AST، D: گروه LPS+AST. a: تجمع نرونی و بزرگنمایی  $100 \times$  می باشد.

ها، مهار فاکتورهای التهابی و کاهش استرس اکسیداتیو همچنین ویژگی مهار سیتوکروم C و کاسپاز ۳ و ۹ توانایی مهار آپوپتوز نوروها را دارد. ۲۱، ۲۲، ۲۳

### نتیجه گیری

تحقیقات به دست آمده عنوان می کند که مواجهه با مقادیر بالای LPS موجب اختلال در رفتار مادرانه و همچنین موجب کاهش تعداد و فعالیت نوروهای ناحیه هیپوتالاموس مغز و متعاقب آن کاهش فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناده ها شد. در صورتی

القای LPS در دوران بارداری احتمالاً باعث تغییر در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناده جنین می گردد که دلیل آن را می توان به وجود سیتوکین های التهابی مادری و ایجاد اختلال در تمایز و مهاجرت نوروهای محور فوق دانست. رنگ آمیزی تخصصی هیپوتالاموس نشان داد که کاهش رنگ پذیری هسته ها در گروه LPS نشان دهنده تعداد کم نوروها می باشد، از سویی افزایش رنگ پذیری هسته ها در گروه دریافت کننده LPS به همراه آستاگزانتین نشان دهنده افزایش تعداد و فعالیت نوروهای هیپوتالاموس می باشد. احتمالاً آستاگزانتین با ویژگی رشد و تمایز میکروتوبولها و نورو



هیپوتالاموس در زاده‌ها گردید.

که درمان با AST باعث افزایش تعداد و فعالیت نورون های ناحیه

## References

1. Ward IL. Prenatal stress feminizes and demasculinizes the behavior of males. *Science* 1972;175(4017):82-4.
2. Takahashi LK, Turner JG, Kalin NH. Prenatal stress alters brain catecholaminergic activity and potentiates stress-induced behavior in adult rats. *Brain research* 1992;574(1-2):131-7.
3. Burger LL, Vanacker C, Phumsatitpong C, Wagenmaker ER, Wang L, Olson DP, et al. Identification of genes enriched in GnRH neurons by translating ribosome affinity purification and RNAseq in mice. *Endocrinology* 2018;159 (4):1922-1940.
4. Zhang G, Ghosh S. Toll-like receptor-mediated NF- $\kappa$ B activation: a phylogenetically conserved paradigm in innate immunity. *The Journal of clinical investigation* 2001;107(1):13-9.
5. Bernardi MM, Kirsten TB, Matsuoka SM, Teodorov E, Habr SF, Penteadó SH, et al. Prenatal lipopolysaccharide exposure affects maternal behavior and male offspring sexual behavior in adulthood. *Neuroimmunomodulation* 2010;17(1):47-55.
6. Kirsten TB, Taricano M, Flório JC, Palermo-Neto J, Bernardi MM. Prenatal lipopolysaccharide reduces motor activity after an immune challenge in adult male offspring. *Behavioural brain research* 2010;211(1):77-82.
7. Wang S, Yan J-Y, Lo Y-K, Carvey PM, Ling Z. Dopaminergic and serotonergic deficiencies in young adult rats prenatally exposed to the bacterial lipopolysaccharide. *Brain research* 2009;1265:196-204.
8. Nouel D, Burt M, Zhang Y, Harvey L, Boksa P. Prenatal exposure to bacterial endotoxin reduces the number of GAD67-and reelin-immunoreactive neurons in the hippocampus of rat offspring. *European Neuropsychopharmacology* 2012;22(4):300-7.
9. Carvey PM, Chang Q, Lipton JW, Ling Z. Prenatal exposure to the bacteriotoxin lipopolysaccharide leads to long-term losses of dopamine neurons in offspring: a potential, new model of Parkinson's disease. *Front Biosci.* 2003;8:s826-s37.
10. Jakob S, Lovell-Badge R. Sex determination and the control of Sox9 expression in mammals. *The FEBS journal* 2011;278(7):1002-9.
11. Cheng CK, Leung PC. Molecular biology of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-I, GnRH-II, and their receptors in humans. *Endocrine reviews* 2005;26(2):283-306.
12. Ohlsson B. Gonadotropin-releasing hormone and its role in the enteric nervous system. *Frontiers in Endocrinology* 2017;8:110.
13. Jo A, Denduluri S, Zhang B, Wang Z, Yin L, Yan Z, et al. The versatile functions of Sox9 in development, stem cells, and human diseases. *Genes & diseases* 2014;1(2):149-61.
14. Guerin M, Huntley ME, Olaizola M. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. *TRENDS in Biotechnology* 2003;21(5):210-6.
15. Shen H, Kuo C-C, Chou J, Delvolve A, Jackson SN, Post J, et al. Astaxanthin reduces ischemic brain injury in adult rats. *The FASEB Journal* 2009;23(6):1958-68.
16. Higuera-Ciapara I, Felix-Valenzuela L, Goycoolea F. Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. *Critical reviews in food science and nutrition* 2006;46(2):185-96.
17. Solati J, Kleehaupt E, Kratz O, Moll GH, Golub Y. Inverse effects of lipopolysaccharides on anxiety in pregnant mice and their offspring. *Physiology & behavior* 2015;139:369-74.
18. Fassett RG, Coombes JS. Astaxanthin, oxidative stress, inflammation and cardiovascular disease. *Future cardiology* 2009;5(4):333-42.
19. Alvarez-Buylla A, Ling C-Y, Kirn JR. Cresyl violet: a red fluorescent Nissl stain. *Journal of neuroscience methods* 1990;33(2-3):129-33.
20. Xuan IC, Hampson DR. Gender-dependent effects of maternal immune activation on the behavior of mouse offspring. *PloS one* 2014;9(8):e104433.
21. Seon-Jin L. Astaxanthin inhibits nitric oxide production and inflammatory gene expression by suppressing I $\kappa$ B kinase-dependent NF- $\kappa$ B activation. *Mol Cells* 2003;16:97-105.
22. Fakhri S, Abbaszadeh F, Dargahi L, Jorjani M. Astaxanthin: A mechanistic review on its biological activities and health benefits. *Pharmacological research*

2018;136:1-20.

23. Gholami-Roudmajani E, Hayati-Roodbari N, Goudarzvand M, Parivar K. Protective Effect of Astaxanthin on Prenatal Bacterial Lipopolysaccharide

Exposed Behavioral Deficits in Adult Mice. Iranian Red Crescent Medical Journal 2020. Doi: 10.5812/ircmj.97600.

Elaheh Gholami Roudmajani<sup>1</sup>,  
Mahdi Goudarzvand<sup>2\*</sup>, Nasim  
Hayati Roodbari<sup>3</sup>, Kazem  
Parivar<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Science  
and Research Branch, Islamic  
Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Physiology and Pharmacology  
Department, Faculty of  
Medicine, Alborz University of  
Medical Sciences, Karaj,  
Alborz, Iran

<sup>3</sup>Department of Biology,  
Science and Research Branch,  
Islamic Azad University,  
Tehran, Iran

<sup>4</sup>Cell and Developmental  
Biology, Science and Research  
Branch, Islamic Azad  
University, Tehran, Iran

## Evaluation of the Protective Effect of Astaxanthin Against Undesired Effects of Prenatal Bacterial Lipopolysaccharide (LPS) Exposure on Maternal Behaviors and Neuronal Changes of Adult Male Offspring in NMRI Mice

Received: 8 Apr 2021 ; Accepted: 19 Feb 2022

### Abstract

**Background:** Prenatal bacterial lipopolysaccharides (LPS) exposure causes damage of the brain and gonadal system. The aim of this study included determination of astaxanthin effect to ameliorate undesired effects of bacterial LPS during fetal period and improve maternal behavior, body weight and length and neural changes in adult male NMRI mice.

**Methods:** Pregnant female mice were divided into four groups. 1) Control: this group received only distill water in gavage route at day 11 of pregnancy. 2) LPS group: this group received subcutaneous 20 µg/kg of body weight LPS at the day 11 of pregnancy. 3) AST receiving females: pregnant mice received 5 mg/kg body weight AST in gavage route at days 11, 12 and 13 of pregnancy. 4) Females receiving LPS+AST: pregnant female received 5 mg/kg AST in form of gavage route at time intervals 11, 12 and 13 of pregnancy. At the day 11 of pregnancy, they received 20 µg/kg LPS 1.5 h after AST gavage. Then, maternal care behaviors were assessed for 3 days. After breeding of offspring, the body weight and height were measured. Moreover, after adult of offspring at the day 60, the neuronal changes of the hypothalamus were studied.

**Results:** In this study, AST did not lead to significant improvement in maternal behaviors, body weight and height of offspring, however, AST conferred positive effect on neuronal cells of the hypothalamus.

**Conclusion:** AST has neuroprotective effects which it might ameliorate the deficits presumably through its antioxidant property.

**Keywords:** Astaxanthin, Bacterial lipopolysaccharides, Maternal behaviors, NMRI mice

#### \*Corresponding Author:

Physiology and Pharmacology  
Department, Faculty of  
Medicine, Alborz University  
of Medical Sciences, Karaj,  
Alborz, Iran

Tel: 09125644620  
E-mail: m.goudarzvand@abzums.ac.ir