

تاثیر مواجهه با استرس مزمن ناهمگون در دوران بارداری بر رفتارهای شبه اضطرابی در فرزندان نر بالغ در موش صحرایی

حسن اژدری زرمهری^۱، بنیامین علی محمدی^۲، حسن عباسیان^۳، صمد ناظمی^۴، محمد محمدزاده^{۵*}

(۱) گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران
(۲) گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
(۳) مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
(۴) مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۵

چکیده

مقدمه: مواجهه جنینی با استرس های فیزیکی می تواند بر عملکردهای رفتاری فرزندان پس از تولد و حتی در دوران بلوغ تاثیر بگذارد. هدف از انجام این مطالعه، تعیین تاثیر مواجهه با استرس مزمن ناهمگون در دوران بارداری بر میزان اضطراب در فرزندان نر بالغ در موش های صحرایی می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی از ۱۰ سر موش صحرایی حامله در دو گروه کنترل و استرس (n=5) استفاده شد. گروه استرس از روز ۹ تا ۱۹ دوران بارداری (۱۰روز) در معرض استرس های ناهمگون قرار گرفتند. پس از پایان دوره بارداری ۱۰ فرزند نر بالغ از هر گروه انتخاب شدند. با استفاده از ماز بعلاوه ای مرتفع، سطح رفتارهای شبه اضطرابی آن ها مورد بررسی قرار گرفت.

یافته های پژوهش: مواجهه با استرس در دوران بارداری زمان سپری شده (P<0.001) و تعداد دفعات ورود به بازوی باز (P<0.01) ماز بعلاوه ای را در فرزندان نر گروه استرس در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش داد. در حالی که زمان سپری شده در بازوی بسته (P<0.05) نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش پیدا کرد. زمان ماندن در قسمت مرکزی، تعداد دفعات ورود به بازوی بسته و تاخیر در اولین ورود به بازوی باز تفاوت معنی داری بین دو گروه نشان نداد.

بحث و نتیجه گیری: مواجهه با استرس در دوران بارداری رفتارهای شبه اضطرابی را در فرزندان نر موش های صحرایی کاهش داد. احتمالاً، تاثیر استرس در دوران بارداری بر بروز این رفتارها می تواند به صورت وابسته به جنس و سن تغییر کند. پژوهش های بیشتر در این زمینه می تواند به مشخص شدن این موضوع کمک کند.

واژه های کلیدی: اضطراب، استرس دوران بارداری، بلوغ، موش صحرایی نر، ماز بعلاوه ای

*نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

مقدمه

بی شک شرایط روحی و روانی و محیطی مادر در دوران بارداری روی رفتار فرزند بعد از تولد تأثیر دارد. برخی استرس‌هایی از قبیل از دست دادن همسر، بلایای طبیعی و استرس‌های زجر آور حین بارداری باعث مشکلاتی مثل سقط و کاهش وزن نوزادان می‌شود. هم‌چنین بیش‌فعالیت، کاهش توجه در پسرها، مشکلات عاطفی در هر دو جنس و مشکلات رفتاری در دخترها گزارش شده است (۱،۲).

قرار گرفتن مادر باردار در معرض استرس مزمن اجباری باعث تغییر در رفتار بچه‌ها می‌شود. مشخص شده زمان واکنش به صدای آزار دهنده در موش‌هایی که در دوره پره‌ناتال تحت استرس اجباری قرار گرفته‌اند در مقایسه با موش‌های بدون استرس کمتر بوده و زمان تأخیر برای رسیدن به حداکثر پاسخ پس از تزریق سیستمیک آگونیست 5HT_{1A} بیشتر شده است. موش‌های تحت استرس حین بارداری در پاسخ به محرک‌های ترس آور تحریک پذیرتر می‌باشند (۳،۴). ۱۵ درصد بچه‌های مادران دارای اضطراب در خطر ابتلا به مشکلات رفتاری و خلقی هستند (۵). هم‌چنین این‌گونه بچه‌ها احتمال بیشتری برای ابتلا به اختلال بیش‌فعالیت، اختلال هدایتی، اضطراب و رفتار تهاجمی دارند (۶،۷). استرس در دوران بارداری احتمالاً موجب اختلال در سیستم پاسخ‌دهی به استرس در مغز شده و از این طریق استعداد ابتلا به اضطراب طولانی مدت در بچه‌ها را افزایش می‌دهد (۸،۹). رشد سریع سیستم عصبی مرکزی پستانداران در دوران جنینی، آن‌را مستعد آسیب در برابر عوامل مختلف فیزیکی و فیزیولوژیک می‌کند. مطالعات انسانی فراوانی نشان داده‌اند که استرس مادر در دوران بارداری عواقب نامطلوبی را در سیستم عصبی کودک به‌جای می‌گذارد. از جمله اختلال بیش‌فعالیت، اوتیسم، اسکیزوفرنی و اختلالات اضطراب را به همراه دارد (۱۰). با این حال، بسیاری از واقعیت‌ها در مورد اثر استرس دوران بارداری بر اختلالات عصبی و رفتاری کودک و هم‌چنین اثر آن در دوران بلوغ به خوبی مشخص نشده است، توسعه مدل‌های حیوانی مناسب به منظور روشن شدن این رابطه و هم‌چنین برای ارزیابی مداخلات درمانی تا حد

زیادی مورد نیاز است. پیشنهاد شده است که تکرار استرس‌های ناهمگون در دوران بارداری در چوندگان ممکن است یک مدل مناسب برای بررسی اثر این استرس‌ها بر رفتار فرزندان بعد از تولد و حتی در دوران بلوغ باشد. استرس ناهمگون مزمن شامل محرومیت غذایی، محرومیت از آب، استرس بی‌حرکتی، بی‌حرکتی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، شنای اجباری و استرس اجتماعی است که در مطالعات مختلف به عنوان مدلی از ایجاد استرس برای حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۱). استرس ناهمگون چندگانه ممکن است نسبت به استرس یکنواخت مزمن بتواند شبیه‌سازی بهتری از شرایط استرس‌زای واقعی مختلفی که حیوان در دوران حاملگی خود تجربه می‌کند ایجاد کند. با توجه به اهمیت بررسی اثر عوامل مختف استرس‌زا در دوران بارداری بر اختلالات مختلف ایجاد شده در فرزندان پس از تولد و کمک به کاهش مشکلات بهداشتی و درمانی و هزینه‌های درمان مشکلات بعدی این فرزندان، مطالعات بیشتر در این خصوص کاملاً ضروری به نظر می‌رسد. بنا بر این مطالعه حاضر، در یک مدل حیوانی به بررسی اثر مواجهه مزمن با استرس تکرار شونده ناهمگون در دوران بارداری بر بروز رفتارهای شبه اضطرابی در نوزادان نر در دوران بلوغ پرداخته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد. در مرحله اول این آزمایش تعداد ۱۰ سر موش صحرایی ماده باردار مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات در شرایط استاندارد تاریکی و روشنایی با دسترسی آزاد به آب و غذای کافی و دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد در قفسه‌های مخصوص حیوانات (۵ سر موش صحرایی در هر قفس) نگهداری شدند. تمامی آزمایشات مطابق با دستورالعمل بین‌المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و به تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی سبزوار رسید.

به منظور تعیین زمان بارداری حیوانات از تست تهیه گسترش واژینال استفاده شد تا موش‌های والد به صورت هم‌زمان در روز مشخصی از دوره بارداری وارد

دوران بارداری) انواع مختلف شرایط استرس زا را دریافت نمودند (۱۲). استرس ناهمگون مزمن (جدول شماره ۱) از مدل های مختلف انواع استرس تشکیل شده که با کمی تغییرات از مطالعات قبلی اقتباس شده است (۵،۱۳).

مطالعه شوند. مادران باردار در دو گروه با استرس و بدون استرس تقسیم بندی شدند ($n=5$). گروه بدون استرس بدون دریافت هیچ استرسی در قفس های خود در طول ۱۰ روز فقط آب و غذا دریافت کردند و موش های تحت استرس به مدت ۱۰ روز (از روز ۹ تا ۱۹)

جدول شماره ۱. برنامه استرس ناهمگون مزمن

روز استرس	نوع استرس	مدت زمان
1	استرس شنا	۱۰ دقیقه
2	استرس رستریز	۳ ساعت
3	محرومیت از آب	۲۴ ساعت
4	استرس رستریز در دمای 4°C	۱،۵ ساعت
5	استرس اجتماعی	۲۴ ساعت
6	محرومیت از غذا	۲۴ ساعت
7	محرومیت از آب	۲۴ ساعت
8	استرس رستریز در دمای 4°C	۲ ساعت
9	محرومیت از غذا	۲۴ ساعت
10	استرس شنا	۱۰ دقیقه

مدت ۵ دقیقه در ماز (قسمت مرکزی و رو به بازوی باز) قرار داده شده و شاخص های استاندارد ارزیابی اضطراب توسط سیستم ویدئویی که در بالای ماز نصب شده بود ثبت گردید. شاخص های اصلی اضطراب که مورد بررسی قرار گرفتند شامل این موارد بودند: ۱- مدت زمان باقی ماندن در بازوی باز ۲- مدت زمان باقی ماندن در بازوی بسته ۳- تاخیر در اولین ورود به بازوی باز ۴- مدت زمان باقی ماندن در وسط ۵- تعداد دفعات ورود به بازوی بسته ۶- تعداد دفعات ورود به بازوی باز (۱۴).

افزایش ورود به بازوهای باز و افزایش مدت زمان سپری شده در بازوی باز شاخص کاهش اضطراب در موش تلقی شد. هم چنین قضاوت در مورد اختلاف معنی دار سطح اضطراب بدین صورت در نظر گرفته شد که اگر هم زمان هر دو شاخص (ورود به بازوی باز و مدت سپری شده در آن ها) در یک راستا کاهش و یا افزایش یابد و حداقل یکی از آن ها تفاوت معنی داری با گروه کنترل داشته باشد، به عنوان تغییر معنی دار سطح اضطراب تلقی شد پس از اتمام زمان مورد نظر ماز تمیز شد و برای حیوان بعدی آماده شد (۱۵). داده ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد از میانگین

پس از پایان دوران بارداری و زایمان، فرزندان نر هر گروه جدا شدند. ۱۰ فرزند نر از مادرهای کنترل که استرس ندیده بودند و ۱۰ فرزند نر از مادرهایی که مطابق با جدول شماره ۱ به مدت ۱۰ روز استرس ناهمگون دریافت کرده بودند انتخاب شدند. پس از رسیدن به وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم، با استفاده از آزمون ماز بعلاوه ای مرتفع میزان اضطراب در آن ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

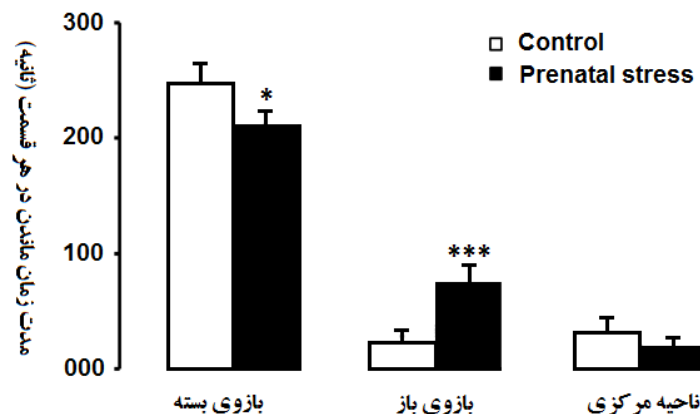
ماز بعلاوه ای شکل مرتفع (EPM) مدل استاندارد برای ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است. این دستگاه دارای دو بازوی باز (هر یک 50×10 سانتی متر همراه با یک لبه پنج میلی متری) و دو بازوی بسته (هر یک $40 \times 10 \times 50$ سانتی متر) و یک کفه مرکزی (10×10 سانتی متر) می باشد، به طوری که بازوهای باز رو به روی هم و بازوهای بسته هم رو به روی یک دیگر قرار دارند و حدود ۷۰ سانتی متر از کف اطاق بالاتر قرار می گیرد. این مدل تجربی سنجش اضطراب غیر شرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد. پنج دقیقه قبل از تست حیوانات به طور جداگان، در جعبه ای به ابعاد $10 \times 40 \times 30$ سانتی متر قرار گرفتند تا فعالیت جستجوگرانه حیوان افزایش یابد. آن گاه به

گروه استرس دیده نسبت به گروه کنترل می باشد (نمودار شماره ۱). علاوه بر این نتایج نشان داد که مدت زمان باقی ماندن در قسمت مرکزی EPM در دو گروه تفاوت معنی داری با هم نداشته است ($P=0.186$), $t(18)=1.375$ (نمودار شماره ۱). در مورد تعداد ورود به هر بازو نتایج نشان داد که برای بازوی بسته تفاوت معنی داری بین دو گروه وجود ندارد ($P=0.821$), $t(18)=0.230$. اما در مورد بازوی باز تعداد دفعات ورود گروه استرس دیده نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش داشته است ($P=0.036$), $t(18)=2.269$ (نمودار شماره ۲A). هم چنین مدت زمان تاخیر در اولین ورود به بازوی باز در گروه استرس دیده نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری نداشته است ($P=0.636$), $t(18)=0.481$ (نمودار شماره ۲B).

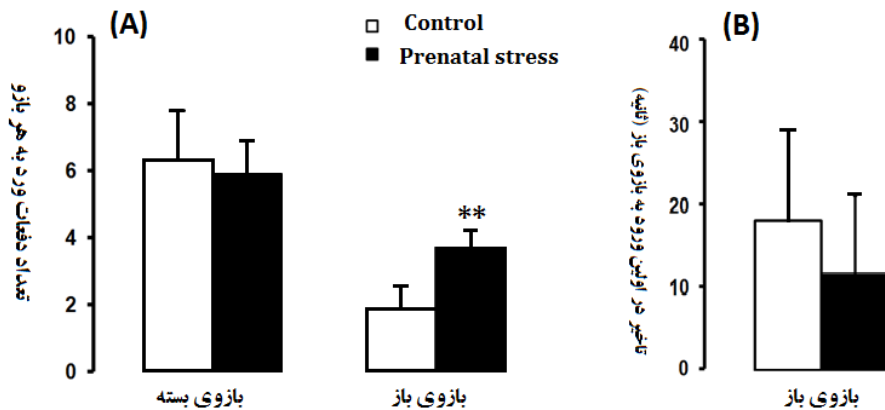
گزارش شده و با استفاده از نرم افزار SPSS vol.19 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در ابتدا نرمالیت داده ها با استفاده از آزمون Shapiro-wilk مورد بررسی قرار گرفت. سپس برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون T-Test مستقل استفاده شد. سطح معنی داری $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

نتایج نشان داد مدت زمان باقی ماندن در بازوی بسته EPM در گروه استرس دیده نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است ($P=0.04$), $t(18)=2.217$. در حالی که مدت زمان باقی ماندن در بازوی باز در گروه استرس دیده نسبت به گروه کنترل افزایش قابل ملاحظه ای داشته است ($P=0.001$), $t(18)=3.930$. این حاکی از کاهش اضطراب طبق دو فاکتور بازوی باز و بسته EPM در



نمودار شماره ۱. اثر مواجهه با استرس مزمن در دوران بارداری بر مدت زمان باقی ماندن در بازوی باز، بسته و قسمت مرکزی در تست *elevated plus maze*. نتایج نشان داد که مدت زمان باقی ماندن در بازوی بسته در گروه استرس دیده در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته ($P<0.05$), در حالی که مدت زمان باقی ماندن در بازوی باز افزایش داشته ($P<0.001$), و مدت زمان باقی ماندن در قسمت مرکزی تفاوت معنی داری در دو گروه نداشته است ($n=10$).
 **: اختلاف معنی دار با گروه کنترل ($P<0.05$)
 ***: اختلاف معنی دار با گروه کنترل ($P<0.001$)



نمودار شماره ۲. اثر استرس مزمن مادرزادی بر تعداد دفعات ورود به بازوی باز و بسته (A) و همچنین مدت زمان تاخیر در اولین ورود به بازوی باز (B) در تست Elevated Plus Maze. تعداد دفعات ورود به بازوی باز در گروه استرس دیده نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافته است ($P < 0.01$)، اما تعداد دفعات ورود به بازوی بسته و مدت زمان تاخیر برای اولین ورود به بازوی باز تفاوت معنی داری را در دو گروه نشان نداد ($n=10$).
 **: اختلاف معنی دار با گروه کنترل ($P < 0.01$)

بحث و نتیجه گیری:

چنان باقی می ماند (۱۹). Ordian و همکاران با اعمال استرس محدودیت حرکتی در موش های صحرایی حامله در روزهای ۱۵ تا ۱۸ دوران بارداری نشان دادند که در فرزندان ماده رفتار اضطرابی ایجاد شده و این اثر در موش های صحرایی آدرنالکتومی که دوز پایین کورتیکواسترون دریافت می کنند دیده نشد در حالی که اگر به همین موش ها دوز بالای این هورمون داده شود همان اثرات اضطراب زایی در تولد ها دیده می شود (۲۰). Bosch و همکاران نشان دادند که مواجهه با استرس در روزهای ۴ و ۱۸ بارداری اثرات متضادی بر اضطراب و ترشح هیپوتالاموسی وازوپرسین و کورتیکوتروپین در موش صحرایی دارد. استرس در روز ۴ موجب افزایش و در روز ۱۸ موجب کاهش این پارامترها می شود. که نشان می دهد زمان قرار گرفتن در معرض استرس هم بر پاسخ های مولکولی و رفتاری ایجاد شده تاثیر دارد (۲۱). در مطالعه حاضر نیز همان طور که اشاره گردید مواجهه از روز ۹ تا ۱۹ بوده که اثرات ضد اضطرابی بیشتر مشاهده گردید. شاید این مدت مواجهه بر پاسخ محورهای هورمونی دخیل در استرس تاثیر داشته است که نیاز به بررسی بیشتری دارد.

در مطالعه دیگری Batuev و همکاران نشان دادند که اعمال مانع فیزیکی به عنوان استرس در موش های

نتایج این مطالعه نشان داد که مواجهه موش های صحرایی با استرس در دوران بارداری زمان سپری شده و تعداد ورود به بازوی باز علاوه ای را در فرزندان نر آن ها افزایش داده و زمان سپری شده در بازوی بسته ماز را کاهش داده است. این امر بیانگر این موضوع است که قرار گرفتن مادر در معرض استرس های ناهمگون در زمان بارداری رفتارهای اضطرابی را در فرزندان نر آن ها در دوران بلوغ کاهش داده است. موضوع تاثیر شرایط فیزیکی و روانی مادران در دوران بارداری بر سطح اضطراب، پرخاشگری، حافظه و رفتارهای اجتماعی فرزندان در مطالعات مختلف حیوانی و انسانی مورد بررسی قرار گرفته و نتایج مختلفی و متناقضی به دست آمده است (۱۶، ۱۷). Boqoch Y و همکاران نشان دادند که القاء اضطراب به مادران در دوران بارداری با خاموش کردن ژن های هیپوکامپی مرتبط با عملکرد سیناپسی در فرزندان آن ها، موجب افزایش احتمال بروز اضطراب، افسردگی و اختلال یادگیری می شود (۱۸). Botuev و همکاران نشان دادند که استرس تغییر مکان یا جا به جایی در هر روز، در طول مرحله سوم حاملگی باعث افزایش اضطراب و کاهش عملکرد لوکوموشن در نوزادها در یک ماهگی می شود و در ۳ ماهگی فقط در جنس نر اضطراب هم

صحرائی حامله موجب افزایش مرده زایی زیاد شده، هم چنین در یک ماهگی موجب کاهش لوکوموشن و افزایش سطح اضطراب دیده شده در حالی که در چهار ماهگی این اثرات معنی دار نبوده است (۲۲).

Uygun و همکاران با اعمال استرس مزمن صوتی با شدت ۱۰۰ دسی بل در روزهای ۱۴ تا ۲۱ حاملگی و روی توله‌ها در ۳۰ تا ۵۱ روزگی نشان دادند که اگر چه استرس صوتی شدید باعث افزایش کورتیکواسترون می شود ولی روی رفتارهای اضطرابی و ادراکی فرزندان تأثیری ندارد (۲۳). در مطالعه دیگری Schulz با اندازه گیری اندکس اضطرابی و توده بدنی در دوران بارداری در موش صحرائی اعلام کردند که تغییرات حافظه ای و اختلالات اجتماعی وابسته به جنس می باشد. به طوری که کاهش حافظه برای اشیاء و مکان های جدید در موش های صحرائی نر و رفتارهای اضطرابی در موش های صحرائی ماده بیشتر دیده می شود (۲۴). هر چند که بیشتر مطالعات تاکید دارند که مواجهه با استرس در دوران بارداری موجب بروز یکسری تغییرات رفتاری در فرزندان از قبیل افزایش اضطراب، افسردگی و اختلالات حافظه و یادگیری می شود. به عنوان مثال Gotz و همکاران با بررسی اثر استرس روانی اجتماعی مادر و اثر آن روی پارامترهای ایمنی خون و کورتیکواسترون مادر نشان دادند که این موارد باعث افزایش اضطراب در بزرگسالی توله های نر می شود (۲۵)، که با نتایج این تحقیق مطابقت ندارد. اما مطالعات مختلف نشان می دهند که تغییرات رفتاری ایجاد شده در اثر قرار گرفتن با عوامل استرس زای مختلف در دوران بارداری به عوامل مختلفی از جمله سن و جنس فرزندان، نوع استرس و زمان قرار گرفتن در معرض استرس بستگی دارد. در این مطالعه نیز نتایج نشان داد که مواجهه با استرس مزمن و ناهمگون در دوران بارداری موجب کاهش سطح اضطراب در فرزندان نر بالغ آن ها شده است. احتمالاً با توجه به این که در این مطالعه ما در فرزندان نر بالغ سطح اضطراب را اندازه گیری کرده ایم احتمالاً، افزایش سن همراه با

بروز برخی از تغییرات هورمونی و تغییرات سیناپسی مرتبط با جنس، در مغز موجب شده که رفتارهای شبه اضطرابی در نوزادان نر بالغ کاهش پیدا کند. به طور مثال Benekaredd و همکاران نشان دادند که بلوک رسپتور سروتونین تیپ ۲ با استفاده از کتانسیرین می تواند با جلوگیری از تشکیل ژن های فوری زود، از ظهور رفتارهای اضطرابی در فرزندان جدا شده از مادرانی که در دوران بارداری در معرض استرس قرار گرفته اند، جلوگیری نماید (۲۶). اثر مواجهه با الکل و استرس مزمن توسط Hellemans بررسی شد و بیان شد که این عامل ها به طور جداگانه می توانند تولید رفتارهای اضطرابی و افسردگی نمایند. موش های صحرائی نر بیشتر رفتارهای بیش فعالی لوکوموتور و موش های صحرائی ماده بیشتر رفتار اضطرابی نشان دادند (۲۷). که تایید می کند بروز رفتارهای اضطرابی وابسته به جنس می باشد که تاییدکننده نتایج این مطالعه می باشد. Fridé و همکاران نشان دادند که استرس دوران بارداری باعث افزایش رفتارهای اضطرابی و تغییر در فعالیت دوپامین در مغز می شود، افزایش دوپامین در ناحیه پره فرونتال راست و کاهش در ناحیه هسته اکومبسنس راست و استریاتوم چپ دیده شد (۲۸). شاید لازم باشد در این مطالعه تغییرات سطوح این ترانسسمیترها اندازه گیری و سپس ارزیابی بیشتری صورت گیرد. به طور خلاصه هر چند که نتایج این مطالعه با فرضیه مطرح شده در مورد اثرات استرس مزمن در دوران حاملگی روی افزایش اضطراب در فرزندان مطابقت ندارد. اما نشان می دهد که زمان قرار گیری در معرض استرس و هم چنین جنس و سن فرزندان در پاسخ رفتاری ایجاد شده تأثیر دارد. احتمالاً قرار گرفتن در معرض استرس مزمن به تنهایی نمی تواند دلیل محکمی برای افزایش رفتار اضطرابی در فرزندان باشد. انجام مطالعه تکمیلی همراه با اندازه گیری تغییرات در سطح هورمون های استرسی در زمان های مختلف بعد از تولد می تواند در مشخص کردن این تناقضات مفید باشد.

References

1. Staneva A, Bogossian F, Pritchard M, Wittkowski A. The effects of maternal depression anxiety and perceived stress during pregnancy on preterm birth: A systematic review. *Women Birth* 2015; 2:111-6.
2. Garciacaceres C, Lagunas N, Calmarzafont I. Gender differences in the long-term effects of chronic prenatal stress on the HPA axis and hypothalamic structure in Rats. *Psychoneuroendocrinology* 2010;35:1525-35.
3. Griffin WC. Prenatal stress alters fear-conditioned behaviors and the response to serotonergic drugs. *West Virginia Uni J* 2001;6:22-8.
4. Brunton PJ, Russell JA. Prenatal social stress in the rat programmes neuroendocrine and behavioural responses to stress in the adult offspring sex-specific effects. *J Neuroendocrinol* 2010;22:258-71.
5. Glover V. The effects of prenatal stress on child behavioural and cognitive outcomes start at the beginning. *Encyclo Early Child Dev* 2011;8:1-5.
6. Glover V. Annual research review prenatal stress and the origins of psychopathology an evolutionary perspective. *J Child Psychol Psychiatry* 2011; 52:356-67.
7. Entringer S, Buss C, Wadhwa PD. Prenatal stress and developmental programming of human health and disease risk concepts and integration of empirical findings. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2010;17:507-16.
8. Sachser N, Hennessy MB, Kaiser S. Adaptive modulation of behavioural profiles by social stress during early phases of life and adolescence. *Neurosci Biobehavior Rev* 2011;35:1518-33.
9. Tollenaar MS, Beijers R, Jansen J, Riksenwalraven JM, de Weerth C. Maternal prenatal stress and cortisol reactivity to stressors in human infants. *Stress* 2011;14:53-65.
10. Ronald A, Pennell CE, Whitehouse AJ. Prenatal maternal stress associated with ADHD and autistic traits in early childhood. *Front Psychol* 2010;1:223.
11. Ghasemi E, Erami E, Elahdadisalmi M, Azhdarizarmehri H. Chronic heterogeneous sequential stress increases formalin-induced nociceptive. *Physiol Pharmacol* 2013;16:371-9.
12. Rajaei F, Erami E, Azhdarizarmehri H. [Effect of exposure to chronic heterogeneous sequential stress during prenatal on formalin-induced nociceptive behaviour in adult offspring]. *J Isfahan Med Sch* 2013;31:1640-48. (Persian).
13. Kapoor A. Effects of acute periods of prenatal stress on behaviour and endocrine function in guinea pigs. *J Uni Toronto* 2008;2:132-9.
14. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the Rat. *J Neurosci Methods* 1985;14:149-67.
15. Uygur EE, Arslan M. Effects of chronic stress on cognitive functions and anxiety related behaviors in rats. *Acta Physiol Hung* 2010; 97:297-306.
16. Anderson G. Prenatal corticosteroids preterm outcomes stress schizophrenia multiple sclerosis and the developmental role of melatonin and vitamin D3. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2010; 23:317-20.
17. Sofiabadi M, Esmaeili M, Haghdoost Yazdy H, Azhdarizarmehri H. The prenatal consumption of aqueous extract of *Glycyrrhiza glabra*, improves memory retrieval in Mice. *J Med Plants* 2011;2:49-54.
18. Bogoch Y, Biala Y, Linal M, Weinstock M. Anxiety induced by prenatal stress is associated with suppression of hippocampal genes involved in synaptic function. *J Neurochem* 2007; 101:1018-30.
19. Batuev A, Poliakova O, Aleksandrov A. The effect of social stress during Rat pregnancy on the anxiety level of the progeny. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova* 2000;50:281-6.
20. Ordian N, Pivina S. Maternal glucocorticoid hormones as a factor mediating the effect of prenatal stress on offspring anxiety. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova* 2002;53:781-83.
21. Bosch OJ, Kromer SA, Neumann ID. Prenatal stress opposite effects on anxiety and hypothalamic expression of vasopressin and corticotropin-releasing hormone in rats selectively bred for high and low anxiety. *Eur J Neurosci* 2006;23:541-51.

22. Batuev A, Vinogradova E, Poliakova O. The effect of stress in pregnant Rats on the anxiety level in their offspring. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova* 1995;46:558-63.
23. Uygur E, Arslan M. Effects of chronic stress on cognitive functions and anxiety related behaviors in Rats. *Acta Physiol Hung* 2010; 97:297-306.
24. Schulz KM, Pearson JN, Neeley EW, et al. Maternal stress during pregnancy causes sex-specific alterations in offspring memory performance, social interactions, indices of anxiety, and body mass. *Physiology Behav* 2011;104:340-47.
25. Gotz AA, Stefanski V. Psychosocial maternal stress during pregnancy affects serum corticosterone, blood immune parameters and anxiety behaviour in adult male rat offspring. *Physiol Behav* 2007; 90:108-15.
26. Benekareddy M, Vadodaria KC, Nair AR, Vaidya VA. Postnatal serotonin type 2 receptor blockade prevents the emergence of anxiety behavior, dysregulated stress-induced immediate early gene responses, and specific transcriptional changes that arise following early life stress. *Biol Psychiatry* 2011;70:1024-32.
27. Hellems KG, Verma P, Yoon E, Yu WK, Young AH, Weinberg J. Prenatal alcohol exposure and chronic mild stress differentially alter depressive- and anxiety-like behaviors in male and female offspring. *Alcohol Clin Exp Res* 2010;34:633-45.
28. Fride E, Weinstock M. Prenatal stress increases anxiety related behavior and alters cerebral lateralization of dopamine activity. *Life Sci* 1988;42:1059-65.



The Effect of Prenatal Exposures to Chronic Heterogeneous Stress on Anxiety-Like Behaviors in Adult Male Offspring in Rats

Azhdarizarmehri H¹, Alimohammadi B², Abbasian H³, Nazemi S⁴, Mohammadzadeh M^{4*}

(Received: April 11, 2015

Accepted: December 26, 2015)

Abstract

Introduction: Prenatal exposure to physical stress could affect the behavioral function of offspring after birth and also in puberty. The aim of this study was to determine the effect of prenatal exposures to chronic heterogeneous stress on anxiety-like behaviors in adult male offspring in rats.

Materials & methods: In this experimental study, 10 pregnant rats were used in control and stress groups (n = 5). The Stress group was exposed to heterogeneous stress from the day of 9 to 19 of pregnancy (10 days). After the end of pregnancy and childbirth, 10 adult male offsprings from each group were selected, using the elevated plus-maze (EPM), the anxiety-like behaviors were studied.

Findings: Exposure to stress during pregnancy significantly increased the time

spent ($P < 0.001$) and the number of entries ($P < 0.01$) into open arms of the elevated plus maze in the offspring's of stress group compared with the control group. While the time spent in the closed arms ($P < 0.05$) significantly decreased than that in the control group. Time to stay in the center, the number of entries into closed arm and delayed to the first entry into the open arm showed no significant difference between the two groups.

Discussion & Conclusions: Exposure to stress during pregnancy reduced anxiety-like behaviors in rats. Probably, the impact of stress during pregnancy on the incidence of these behaviors can change depending on sex and age. More research in this area could help clarify the issue.

Keywords: Anxiety, EPM, Male Rat, Prenatal stress, Puberty

1. Dept of Basic sciences, Faculty of Medicine, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

2. Dept of Physiology, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

3. Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

4. Cellular and Molecular Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

*Corresponding author Email: azhariz@yahoo.com