DOI: 10.22034/JAR.2023.2326 مقاله پژوهشی، صفحات۲۶۶-۲۴۹

ارزیابی اثر محافظتی روغن ماهی در برابر سمیت ناشی از هیپوکسی دوران بارداری بر هیستومورفومتری جفت موش صحرایی

کاوه خزائیل[۱،۲*]، عباس صادقی[۱]، رضا جهانگیری[۳] و زهره قطب الدین[۴]

[۱] ایران، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه، بخش آناتومی و جنین‌شناسی

[۲] ایران، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و فناوری ترانسژنیک

[۳] ایران، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده دامپزشکی

[۴] ایران، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه، بخش فیزیولوژی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۳

چکیده

هیپوکسی در دوران بارداری باعث ایجاد آسیب به سلول‌های تروفوبلاست جفت می‌شود که می‌تواند بر سازگاری مادر با بارداری و سلامت جنین تأثیر منفی بگذارد. روغن ماهی با خواص آنتی‌اکسیدانی خود از اختلالات جنینی در دوران بارداری جلوگیری می‌کند. این مطالعه به منظور تعیین تأثیر روغن ماهی بر تغییرات هیستومورفومتریک جفت ناشی از هیپوکسی دوران بارداری در موش صحرایی انجام شد. در این مطالعه تجربی، ۲۴ موش صحرایی ماده باردار نژاد ویستار به ۴ گروه کنترل، هیپوکسی، روغن ماهی (۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) و هیپوکسی+روغن ماهی تقسیم شدند. مدل هیپوکسی بین روزهای ۶ تا ۱۵ بارداری ایجاد شد و روغن ماهی از طریق گاواژ تجویز شد. در روز بیست بارداری، بررسی‌های مورفومتریک جفت شامل وزن، قطر و ضخامت جفت انجام شد. ساختار بافت‌شناسی جفت‌ها با استفاده از رنگ آمیزی عمومی و اختصاصی مورد ارزیابی قرار گرفت. هیپوکسی در دوران بارداری باعث کاهش معنی‌دار وزن، قطر و ضخامت جفت، ضخامت لایه‌های لابیرنت و اسپانژیوم نسبت به گروه کنترل شد ($p<۰/۰۵$). همچنین هیپوکسی به طور معنی‌داری باعث افزایش تعداد سلول‌های غول‌پیکر و ضخامت لایه دسیدوآ شد ($p<۰/۰۵$). تجویز روغن ماهی همراه با هیپوکسی در دوران بارداری باعث افزایش معنی‌دار وزن، قطر و ضخامت جفت، تعداد سلول‌های گلیکوژن و ضخامت لایه‌های لابیرنت و اسپانژیوم و کاهش معنی دار تعداد سلول‌های غول‌پیکر و ضخامت لایه دسیدوآ نسبت به گروه هیپوکسی گردید ($p<۰/۰۵$). هیپوکسی در دوران بارداری می‌تواند اثرات مخربی بر بافت جفت داشته باشد و مصرف روغن ماهی می‌تواند تا حدی از اثرات مخرب هیپوکسی بر بافت جفت جلوگیری کند.

واژه های کلیدی: هیپوکسی، هیستومورفومتری، روغن ماهی، جفت، موش صحرایی

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: k.khazaeil@scu.ac.ir

مقدمه

جفت به عنوان یک عضو حیاتی در دوران بارداری، نقش مهمی در تسهیل تبادل مواد مغذی و اکسیژن بین گردش خون مادر و جنین در حال رشد ایفا می‌کند. عوامل مختلفی، از جمله هیپوکسی، می‌توانند بر عملکرد جفت تأثیر منفی بگذارند و منجر به پیامدهای نامطلوبی شوند. هیپوکسی مزمن، وضعیتی است که با اکسیژن رسانی ناکافی به بافت‌ها مشخص می‌شود که به عنوان تهدید قابل توجهی برای رشد و سلامت جنین است. قرار گرفتن طولانی مدت جنین در معرض شرایط هیپوکسی در طول بارداری می‌تواند منجر به طیف وسیعی از تغییرات فیزیولوژیکی و مولکولی شود که

DOI: 10.22034/JAR.2023.2326 مقاله پژوهشی، صفحات۲۶۶-۲۴۹

پیامدهای طولانی مدتی بر سلامت نوزادان دارد (۱۶). مطالعات نشان داده‌اند که جنین‌های موش‌های صحرایی که در معرض هیپوکسی طولانی‌مدت قرار می‌گیرند، کاهش وزن بدن، تغییر رشد اندام‌ها و اختلال عملکردی در بلوغ را نشان می‌دهند (۱۵،۲۹). هنگامی که جفت در معرض شرایط هیپوکسیک قرار می‌گیرد، ممکن است دچار تغییرات ساختاری و عملکردی شود که منجر به پیامدهای نامطلوب بارداری شود (۳۲). نشان داده شده است که هیپوکسی قبل از تولد استرس اکسیداتیو جفت را افزایش می‌دهد و عملکرد جفت را به شیوه‌ای خاص مختل می‌کند و در نتیجه بر رشد جنین تأثیر می‌گذارد (۲۷). افزایش استرس اکسیداتیو به دنبال هیپوکسی بارداری یک مکانیسم مهم برای محدودیت رشد جنین است. هیپوکسی داخل رحمی با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن تاثیر مخربی بر تکامل جنین و آسیب بافت‌های حساس دارد (۱۴). مطالعات انسانی و حیوانی نشان داده‌اند که عوامل و محیط نامطلوب مادری (مانند هیپوکسی قبل از تولد)، باعث تغییر در مورفولوژی جفت و بیان ژن‌های جفت می‌شود (۲۵، ۳۱). علاوه بر این، هیپوکسی و استرس اکسیداتیو جفت ممکن است باعث اختلال در عملکرد میتوکندری، آسیب DNA، یا کاهش بیان سیستم آنتی‌اکسیدانی شود (۳۰).

ماهی یا روغن ماهی به دلیل داشتن اسید چرب دوکازا هگزانوئیک اسید برای رشد و تکامل طبیعی جنین توصیه می‌شود (۲۲). دوکازا هگزانوئیک اسید از خانواده اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره طولانی یا اسیدهای چرب امگا ۳ است که در غشای فسفولیپیدی اکثر سلول‌ها یافت می‌شوند. این اسید چرب جزو اسیدهای چرب ضروری است که بدن قادر به سنتز آن نیست و باید از طریق رژیم غذایی وارد بدن شود (۲۵). بیشتر گزارشات نشان می‌دهند که رژیم غذایی غنی از این اسیدهای چرب در طول بارداری از اختلالات جفت، کاهش رشد جنین و زایمان زودرس جلوگیری می کند (۶). همچنین نشان داده شده است که روغن ماهی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کرده و باعث کاهش مالون دی آلدئید و محافظت بافت‌ها در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن در موش صحرایی می‌شوند (۱۸).

با توجه به اثرات سوء ذکر شده در خصوص هیپوکسی و همچنین نقش آنتی‌اکسیدانی روغن ماهی، این مطالعه با هدف تعیین اثر روغن ماهی همزمان با ایجاد مدل هیپوکسی طی دوران بارداری، بر تغییرات ساختار هیستومورفومتری جفت موش صحرایی انجام شد.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش صحرایی ماده بالغ و ۱۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی (۲۰۰-۲۵۰) گرم برای جفت‌گیری، تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری و در دمای ۲±۲۳ سانتی‌گراد استفاده شد. در ضمن همه حیوانات به‌صورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. تمام مراحل آزمایش براساس دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز طراحی و با کد EE/97.24.3.49918/scu.ac.ir اجرا شد. برای انجام عمل جفت‌گیری، دو موش صحرایی ماده با یک موش صحرایی نر، یک شب هم قفس شدند و روز بعد از موش‌های ماده اسمیر واژنی گرفته شد و با مشاهده اولین اسپرماتوزوئید در اسمیر واژنی، آن روز به عنوان روز صفر بارداری در نظر گرفته شد (۲۶).

موش‌های جفت‌گیری شده درون قفس‌های جداگانه نگه‌داری و به‌طور تصادفی به ۴ گروه آزمایشی (تعداد ۶ سر موش باردار در هر گروه) شامل: کنترل، هیپوکسی، روغن ماهی (۱ میلی‌لیتر/کیلوگرم/روزانه، به صورت خوراکی) و هیپوکسی + روغن ماهی تقسیم شدند. نحوه ایجاد مدل هیپوکسی قرار گرفتن در جعبه هیپوکسی با شدت اکسیژن ۱۰ درصد و نیتروژن ۹۰ درصد در روزهای ۶ تا ۱۵ بارداری، هر روز به مدت ۳ ساعت به روش مزمن بود (۲۱). گروه‌های

DOI: 10.22034/JAR.2023.2326 مقاله پژوهشی، صفحات۲۶۶-۲۴۹

دریافت کننده روغن ماهی در مدت زمان مشابه با گروه هیپوکسی، روزانه روغن ماهی را به شکل گاواژ دریافت کردند (۴). به گروه کنترل نیز در مدت زمان مشابه نرمال سالین گاواژ شد. کلیه آزمایش‌ها در زمان روشنایی، بین ساعت ۸ صبح الی ۴ بعدازظهر به منظور جلوگیری از تأثیر ریتم شبانه‌روزی حیوان بر آزمایش‌ها انجام گرفت.

برای اعمال هیپوکسی از یک محفظه شیشه‌ای حاوی یک فن، دریچه ورودی وخروجی هوا که به یک کپسول اکسیژن و یک کپسول نیتروژن متصل می‌شود، استفاده شد. نحوی ایجاد مدل هیپوکسی به این صورت بود که موش‌های باردار از روز ۶ تا ۱۵ بارداری داخل جعبه قرار می‌گرفتند و با تنظیم ورود اکسیژن ۱۰ درصد و نیتروژن ۹۰ درصد به داخل جعبه، به مدت پنج دقیقه دریچه ورود و خروج هوا را باز نگه داشته می‌شد تا هوای داخل جعبه خارج و خلاء ایجاد شود. تعیین میزان اکسیژن محفظه به کمک دستگاه اکسی متر تنظیم می شد. برای مخلوط شدن کامل هوای داخل جعبه هیپوکسی فن روشن می‌شد. سپس دریچه ورود و خروج هوا را بسته و به مدت ۳ ساعت موش‌ها در معرض هوایی با شدت ۱۰ درصد اکسیژن و ۹۰ درصد نیتروژن قرار می‌گرفتند.

جهت نمونه‌گیری از گروه‌های مختلف، در روز بیستم آبستنی، موش‌ها توسط مخلوط کتامین (۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) - زایلازین (۴ میلی‌گرم/کیلوگرم) (Alfasan, Woerden, Netherlands) بیهوش و سپس آسان‌کشی شدند. پس از باز کردن محوطه‌ی شکمی و برش شاخ رحم، جفت‌ها به همراه جنین‌ها خارج و علاوه بر بررسی‌های دقیق ظاهری، از نظر پارامترهای ماکروسکوپی شامل تغییرات وزن، قطر و ضخامت جفت‌ها مورد اندازه‌گیری و مقایسه قرار گرفتند. جهت توزین جفت از ترازوی دیجیتال (CAS CA, South Korea)، و برای اندازه‌گیری قطر و ضخامت جفت از کولیس دیجیتال (CA2, China) استفاده شد.

جهت مطالعات هیستومورفومتری، پس از تثبیت نمونه‌های جفت در فرمالین، از هر موش صحرایی ۵ بلوک تهیه و با استفاده از روش‌های متداول تهیه‌ی مقاطع بافتی، از هر بلوک ۳ برش به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و مورد رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین (H&E) و پریودیک اسید شیف (PAS) قرار گرفتند. مقاطع تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری (Olympus, Japan) بررسی شده و پارمترهای مختلف از جمله تعداد سلول‌های غول پیکر (giant cells) و گلیکوژن، ضخامت ناحیه‌ی لابیرنت، اتصالی و همچنین ناحیه‌ی دسیدوآ جفت در همه‌ی گروه‌ها با استفاده از نرم افزار DinoCapture 2.0 نسخه ۱/۵/۴۲ بررسی شدند (۲۳).

تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۴ انجام شد. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده ها از آزمون Shapiro Wilk، و برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی Tukey استفاده شد. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها P<۰/۰۵ منظور گردید. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه‌وتحلیل واریانس یک‌طرفه داده‌های مربوط به میانگین وزن جفت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار میانگین وزن جفت در گروه‌های مختلف آزمایشی بود (P < ۰/۰۰۱). با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۱، میانگین وزن جفت در گروه هیپوکسی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت (P < ۰/۰۰۱). در گروه هیپوکسی دریافت کننده روغن ماهی، افزایش معنی‌داری در میانگین وزن جفت نسبت به گروه هیپوکسی مشاهده شد (P < ۰/۰۰۱). میانگین وزن جفت در گروه هیپوکسی دریافت کننده روغن ماهی اختلاف معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان نداد (P = ۰/۱۱۳). با این حال، میانگین وزن جفت در گروه هیپوکسی + روغن ماهی نسبت به گروه روغن ماهی کاهش معنی‌داری داشت (P = ۰/۰۳۹) (جدول ۱).

مقاله پژوهشی، صفحات۲۶۶-۲۴۹ DOI: 10.22034/JAR.2023.2326

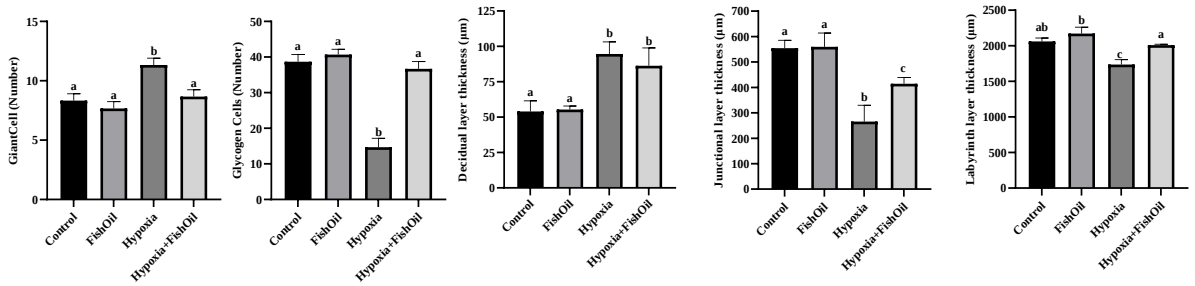
نتایج حاصل از بررسی‌های قطر و ضخامت جفت نشان دهنده‌ی کاهش معنی‌دار میانگین ضخامت و قطر جفت در گروه هیپوکسی نسبت به گروه کنترل بود (به ترتیب ۰/۰۰۱ = P ، ۰/۰۱۱ = P). با این حال، در گروه هیپوکسی دریافت کننده روغن ماهی اختلاف معنی‌داری در میانگین قطر و ضخامت جفت نسبت به گروه کنترل وجود نداشت (به ترتیب ۰/۱۴۳ = P، ۰/۷۶۸ = P). میانگین قطر جفت در گروه هیپوکسی + روغن ماهی نسبت به گروه روغن ماهی کاهش معنی داری را نشان داد (۰/۰۳۲ = P)، در حالی که میانگین ضخامت جفت اختلاف معنی‌داری بین گروه هیپوکسی + روغن ماهی و گروه روغن ماهی مشاهده نشد (۰/۳۱۶ = P) (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین ± انحراف معیار وزن، قطر و ضخامت جفت در گروه‌های مختلف آزمایشی (۶ موش صحرایی آبستن در هر گروه).

پارامترها / گروه ها	وزن جفت (گرم)	قطر جفت (میلی‌متر)	ضخامت جفت (میلی‌متر)
کنترل	۰/۵۸۷ ± ۰/۰۱۴ ab	۱۲/۹۲ ± ۰/۴۹ ab	۳/۴۸ ± ۰/۳۱ a
روغن ماهی	۰/۵۹۷ ± ۰/۰۱۱ a	۱۳/۲۵ ± ۰/۳۶ a	۳/۶۸ ± ۰/۳۳ a
هیپوکسی	۰/۴۰۷ ± ۰/۰۱۲ c	۱۱/۰۱ ± ۰/۲۴ c	۲/۵۰ ± ۰/۲۴ b
هیپوکسی + روغن ماهی	۰/۵۵۲ ± ۰/۰۲۴ b	۱۲/۱۵ ± ۰/۳۸ b	۳/۲۶ ± ۰/۱۹ a

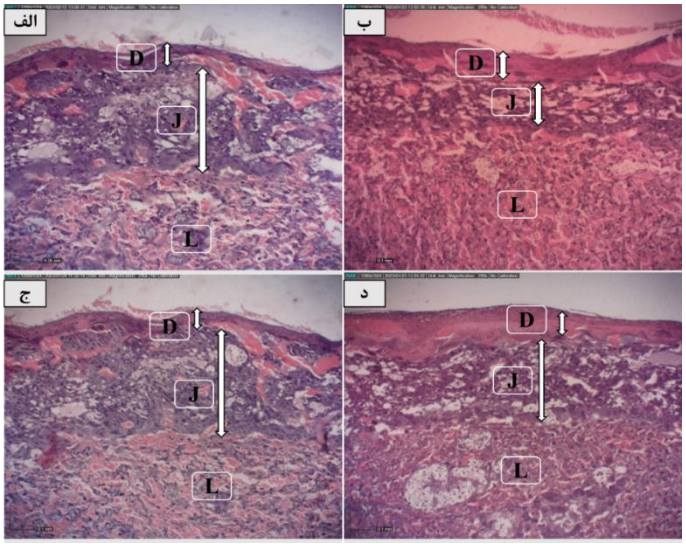
abc حروف غیرمشابه در هر ردیف افقی بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح P< ۰/۰۵ است.

نتایج حاصل از بررسی‌های بافت‌شناسی مقاطع جفت نشان داد که میانگین طول ناحیه دسیدوآ در گروه هیپوکسی به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بود (P<۰/۰۰۱). در حالی که میانگین طول نواحی اتصالی و لابیرنت در گروه هیپوکسی به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود (به ترتیب P=۰/۰۱۲ ، P<۰/۰۰۱). طول نواحی اتصالی و لابیرنت در گروه هیپوکسی + روغن ماهی نسبت به گروه هیپوکسی افزایش معنی‌داری را نشان داد (به ترتیب P=۰/۰۱۲ ، P<۰/۰۰۱). با این حال طول ناحیه دسیدوآ در گروه هیپوکسی + روغن ماهی اختلاف معنی‌داری با گروه هیپوکسی نداشت (P<۰/۰۰۱). علاوه بر این، اختلاف معنی‌داری در طول ناحیه لابیرنت در گروه هیپوکسی + روغن ماهی نسبت به گروه کنترل وجود نداشت (P<۰/۰۰۱) (شکل ۱ و ۲).



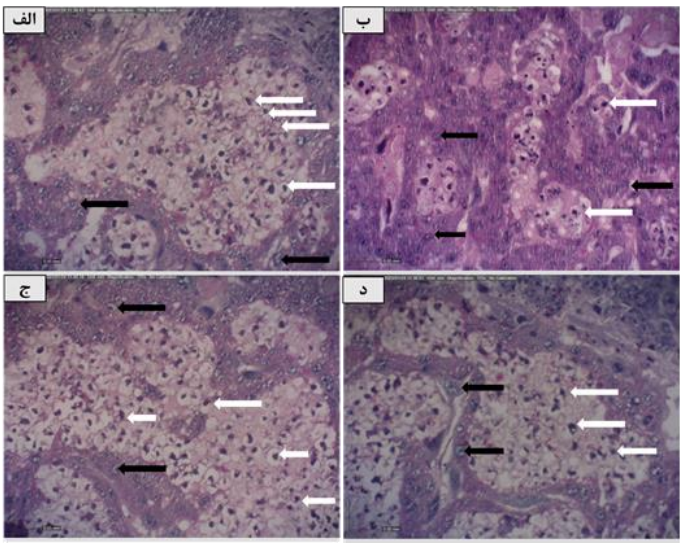
شکل ۱- مقایسه میانگین ± انحراف ضخامت لایه‌های دسیدوا، اتصالی و لابیرنت و تعداد سلول‌های غول‌پیکر (Giant cells) و تعداد سلول‌های گلیکوژن (Glycogen cells) در بافت جفت گروه‌های مختلف آزمایشی (۶ موش صحرایی آبستن در هر گروه). abc حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح P< ۰/۰۵ است.

مقاله پژوهشی، صفحات۲۶۶-۲۴۹ DOI: 10.22034/JAR.2023.2326



شکل ۲- ساختار میکروسکوپی جفت در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (۶ موش صحرایی آبستن در هر گروه، رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E)، بزرگنمایی X40). در این تصویر افزایش مشخص دسیدوآ (D) در گروه‌های هیپوکسی و هیپوکسی + روغن ماهی، و کاهش لایه اتصالی (J) در گروه هیپوکسی نسبت به گروه‌های کنترل و روغن ماهی دیده می‌شود. الف) گروه کنترل، ب) گروه هیپوکسی ، ج) گروه روغن ماهی، د) گروه هیپوکسی + روغن ماهی.

میانگین تعداد سلول‌های غول‌پیکر در گروه هیپوکسی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت (P=۰/۰۰۴). با این حال، میانگین تعداد سلول‌های گلیکوژن در گروه هیپوکسی کاهش معنی‌داری را نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد (P<۰/۰۰۱). تجویز روغن ماهی همراه قرار گرفتن حیوانات در معرض هیپوکسی موجب پیش‌گیری از تغییرات ناشی از اثر هیپوکسی بر تعداد سلول‌های غول‌پیکر و تعداد سلول‌های گلیکوژن شد. به طوری که تعداد سلول‌های غول‌پیکر و تعداد سلول‌های گلیکوژن در گروه هیپوکسی + روغن ماهی اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل و روغن ماهی نشان ندادند (به ترتیب P=۰/۰۱۲ ، P<۰/۰۰۱) (شکل ۱ و ۳).



شکل ۳- ساختار میکروسکوپی جفت در گروه‌های مختلف مورد مطالعه (۶ موش صحرایی آبستن در هر گروه، رنگ امیزی پریودیک اسید شیف (PAS)، بزرگنمایی X100). در این تصویر کاهش تعداد سلول‌های کلیگوژن (پیکان‌های سفید) و افزایش تعداد سلول‌های غول‌پیکر (پیکان‌های سیاه) و در گروه هیپوکسی نسبت به گروه‌های کنترل، روغن ماهی و هیپوکسی + روغن ماهی دیده می‌شود. الف) گروه کنترل، ب) گروه هیپوکسی ، ج) گروه روغن ماهی، د) گروه هیپوکسی + روغن ماهی.

DOI: 10.22034/JAR.2023.2326 مقاله پژوهشی، صفحات۲۶۶-۲۴۹

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر برای اولین بار، تاثیر محافظتی روغن ماهی در برابر سمیت ناشی قرار گرفتن در معرض هیپوکسی بر مورفومتری و هیستومتری بافت جفت بررسی گردید. تا اکنون مطالعه‌ای با هدف ارزیابی نقش روغن ماهی در حفاظت از بافت جفت موش صحرایی در مقابل سمیت ناشی از قرار گرفتن در معرض هیپوکسی انجام نگرفته است. یافته‌های مورفومتری و هیستومتری مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که تجویز روغن ماهی به موش‌های صحرایی باردار در معرض هیپوکسی می‌تواند تا حد زیادی از آسیب و تغییرات ساختار جفت جلوگیری کند.

مطالعات متعددی برای بررسی اثرات هیپوکسی بر جفت موش انجام شده است که شواهدی بر تغییرات در ساختار و عملکرد جفت در شرایط کمبود اکسیژن ارائه می‌دهند. این مطالعات از مدل‌ها و تکنیک‌های تجربی مختلف برای ارزیابی تأثیر هیپوکسی بر هیستومورفومتری جفت استفاده کرده‌اند. یکی از این مطالعات نشان داده شده است که هیپوکسی منجر به کاهش وزن جفت در مدل‌های حیوانی می‌شود. کاهش وزن جفت نشان دهنده کاهش توده کلی جفت است که می‌تواند منعکس کننده اختلال در رشد جفت و عملکرد آن است (۵). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هیپوکسی دوران بارداری باعث کاهش وزن، قطر و ضخامت جفت و همچنین کاهش ضخامت لایه‌های لابیرنت و اتصالی و افزایش ضخامت لایه دسیدوآ می‌گردد. مطالعات نشان داده‌اند که شرایط هیپوکسی باعث افزایش ضخامت سد جفتی می شود. این ضخیم شدن با اختلال در انتقال اکسیژن و مواد مغذی، می‌تواند مانع از انتشار مواد ضروری شود و سلامت جنین را بیشتر در معرض خطر قرار دهد (۱۹).

مطالعات دیگری نشان داده است که هیپوکسی می‌تواند روند آنژیوژنز را در جفت مختل کند. تغییر رگ‌زایی در جفت در شرایط هیپوکسی ممکن است منجر به رگ زایی ناکافی شود و خون رسانی لازم برای عملکرد مطلوب جفت و رشد جنین را کاهش دهد (۶). یکی از مکانیسم‌های کلیدی که هیپوکسی از طریق آن منجر به اثرات سمی بر هیستومورفومتری جفت می‌شود، شامل فعال شدن فاکتور القا کننده هیپوکسی (Hypoxia-inducible factor, HIF) است که بیان ژن‌های دخیل در هموستاز اکسیژن را تنظیم می‌کند. در شرایط هیپوکسی، HIF باعث کاهش بیان عوامل مختلفی همچون فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Vascular endothelial growth factor, VEGF) و همچنین باعث آزادسازی سایتوکین‌های پیش التهابی و فعال شدن مسیرهای التهابی و فعال سازی مسیرهای استرس اکسیداتیو می‌شود (۲۸). از آنجایی که جفت فاقد عصب اتونوم و کولینرژیک است، مورفولوژی و عملکرد جفت به عوامل رشد مشتق شده خود مانند فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و فاکتور رشد شبه انسولین ۲ (Insulin-like growth factor 2; IGF2) وابسته است (۲۴). کاهش بیان IGF2 همچنین با محدودیت رشد داخل رحمی (Intrauterine growth restriction; IUGR) مرتبط است که برای مورفولوژی جفت و انتقال مواد مغذی به جنین حیاتی است (۹). بیان فاکتور رگ زایی VEGF توسط خانواده سنسور اکسیژن از فاکتورهای رونویسی مانند فاکتور ۱ آلفا قابل القای هیپوکسی (HIF-1α) تنظیم می‌شود (۱۱). نشان داده شده است که هیپوکسی جفت از طریق VEGF و HIF-1α به رشد عروقی جفت جنینی آسیب می‌رساند (۱۰).

در سطح مولکولی، هیپوکسی مزمن باعث ایجاد آبشاری از پاسخ های سلولی، از جمله تغییر الگوهای بیان ژن، تغییرات اپی ژنتیکی و استرس اکسیداتیو می‌شود. عوامل القا کننده هیپوکسی (HIFs) با تنظیم بیان ژن‌های دخیل در انتقال اکسیژن، رگ‌زایی و متابولیسم انرژی، نقش اصلی را در تنظیم این پاسخ‌های تطبیقی دارند. بی نظمی این مسیرهای مولکولی می‌تواند پیامدهای عمیقی بر رشد جنین داشته باشد (۳). نارسایی جفت اغلب با استرس اکسیداتیو و تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در جفت همراه است که عدم تعادل در سطوح ROS ناشی از تولید بیش از حد ROS و یا

DOI: 10.22034/JAR.2023.2326 مقاله پژوهشی، صفحات۲۶۶-۲۴۹

کاهش آنتی اکسیدان‌های ساخته شده توسط بدن مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) می‌تواند منجر به اختلال در رشد جفت شود (۲۸). نشان داده شده است که استرس اکسیداتیو ناشی از هیپوکسی می‌تواند منجر به عدم تعادل بین تولید ROS و سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی شود (۱). افزایش سطح ROS می‌تواند باعث آسیب سلولی و تغییر در عملکرد جفت شود (۸). این مطالعات در مجموع نشان می‌دهد که هیپوکسی اثرات مضری بر هیستومورفومتری جفت موش صحرایی دارد. در مطالعه حاضر نیز به نظر می‌رسد که تغییرات مشاهده شده در ساختار جفت، از جمله تغییر در وزن جفت، ضخامت لایه‌های جفت، و تعداد سلول‌های گلیکوژن و غول پیکر احتمالا از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو و تغییر در بیان ژن‌های جفت بوده که در نهایت ساختار مورفومتری و هیستومتری را دچار تغییر کرده است.

یافته‌های مطالعه حاضر اثرات حمایتی روغن ماهی را در برابر سمیت ناشی از هیپوکسی در طول بارداری بر برخی از پارامترهای هیستومورفومتری جفت موش صحرایی نشان داد. روغن ماهی غنی از اسیدهای چرب امگا ۳ است که اثرات محافظتی در عوارض مختلف بارداری نشان داده است (۷). اسیدهای چرب امگا ۳ موجود در روغن ماهی، به ویژه ایکوزاپنتانوئیک اسید (Eicosapentaenoic acid; EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (Docosahexaenoic acid; DHA)، دارای خواص ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و گشاد کنندگی عروق هستند. این خواص ممکن است با کاهش التهاب، استرس اکسیداتیو و بهبود جریان خون جفت، به اثرات مفید روغن ماهی بر سلامت جفت کمک کند (۱۳). تجویز روغن ماهی به حیوانات در معرض هیپوکسی باعث بهبود شاخص‌های موفومتری و هیستومورفومتری جفت گردید. همسو با مطالعه حاضر، Jones و همکاران نیز نشان دادند که اسیدهای چرب امگا ۳ باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در هر دو ناحیه اتصالی و لابیرنت جفت و افزایش رشد جفت و جنین می‌شود (۲۰). استرس اکسیداتیو یک عامل کلیدی در اختلال عملکرد جفت است. روغن ماهی حاوی آنتی اکسیدان‌هایی است که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و آسیب اکسیداتیو در جفت را کاهش دهد (۲). اسیدهای چرب امگا ۳ موجود در روغن ماهی می‌توانند فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) را افزایش دهند و در نتیجه سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی جفت را تقویت کنند (۱۷). اسیدهای چرب امگا ۳ موجود در غشاهای سلولی می‌توانند سیالیت آنها را افزایش داده و در نتیجه بر فرآیندهای سلولی مختلف تأثیر بگذارند. این سیالیت غشاء بهبود یافته می‌تواند مسیرهای انتقال پیام رسانی درگیر در رشد، تمایز و عملکرد جفت را تحت تاثیر قرار دهد (۱۲). نتایج نشان دهنده‌ی این بود که تجویز روغن ماهی باعث بهبود اثرات تخریبی ناشی از هیپوکسی در موش‌های صحرایی شده است. البته در گروهی که روغن ماهی را به تنهایی دریافت می‌کرد پارامترهایی مانند ضخامت جفت، قطر جفت، وزن جفت، ضخامت لایه لابیرنت و تعداد سلول‌های گلیکوژن در این گروه نسبت به گروه کنترل افزایش داشتند با این حال این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود. بنابراین به نظر می‌رسد که روغن ماهی با خاصیت آنتی اکسیدانی خود از طریق جلوگیری از استرس اکسیداتیو ناشی از هیپوکسی، عملکرد محافظتی خود را ایفا می کند. از محدودیت های این مطالعه می توان به عدم بررسی پارامترهای استرس اکسیداتیو جفت متعاقب مواجهه با هیپوکسی و دریافت روغن ماهی اشاره نمود. در تحقیقات آینده بهتر است فاکتورهای متنوع دیگری از جمله بررسی بیان ژن‌های آپوپتوزی در جفت و همچنین سنجش فاکتورهای استرس اکسیداتیو دخیل در هیپوکسی و اثرات آنتی اکسیدانتی روغن ماهی بر پارامترهای استرس اکسیداتیو سنجیده شود و با یافته‌های مطالعه حاضر مقایسه شود.

مطالعه حاضر اثر محافظتی مکمل روغن ماهی را در برابر سمیت ناشی از هیپوکسی بر هیستومورفومتری جفت موش نشان می‌دهد. سمیت ناشی از هیپوکسی پیامدهای قابل

DOI: 10.22034/JAR.2023.2326 مقاله پژوهشی، صفحات۲۶۶-۲۴۹

توجهی برای هیستومورفومتری جفت موش صحرایی دارد که منجر به تغییرات مورفومتری و هیستومورفومتری جفت می‌شود. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که روغن ماهی پتانسیل کاهش آسیب جفت ناشی از هیپوکسی را دارد. استفاده از مکمل روغن ماهی به عنوان یک مداخله محافظتی امیدوار کننده است، اما تحقیقات بیشتری برای بهینه‌سازی استفاده از آن و کشف راه‌های دیگر برای کاهش سمیت جفت ناشی از هیپوکسی مورد نیاز است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز در قالب پژوهانه در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱- احمدی، ز.، حسین نجدگرامی، ا.، نجاتی، و.، نجفی، ن.، ۱۴۰۰. اثر حفاظتی پپتیدهای زیست فعال بر شاخص های بافتی بیضه، اسپرماتوژنز و کاهش استرس اکسیداتیو در رت های نر تیمار شده با سایمتیدین. پژوهش‌های جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، دوره ۳۴، شماره ۴، ص ۲۱۵-۲۲۴.

۲- ولی زاده، م.، نجاتی، و.، شالیزارجلالی، ع.، نجدگرامی، ا.ح.، نجفی، غ.، ۱۴۰۰. اثر پپتید زیست فعال مشتق از ماهی ساردین برلوله‌های اسپرم‌ساز متعاقب القاء تنش حرارتی در موش صحرایی نر بالغ. پژوهش‌های جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، دوره ۳۴، شماره ۲، ص ۱۲۶-۱۴۰.

3- Al Tameemi W, Dale TP, Al-Jumaily RM, Forsyth NR. Hypoxia-modified cancer cell metabolism. Front Cell Dev Biol 2019; 7: 4. https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00004.

4- Albert BB, Vickers MH, Gray C, Reynolds CM, Segovia SA, Derraik JG, et al. Fish oil supplementation to rats fed high-fat diet during pregnancy prevents development of impaired insulin sensitivity in male adult offspring. Sci Rep 2017; 7(1): 5595. https://doi.org/10.1038/s41598-017-05793-0.

5- Aljunaidy MM, Morton JS, Kirschenman R, Phillips T, Case CP, Cooke CL, et al. Maternal treatment with a placental-targeted antioxidant (MitoQ) impacts offspring cardiovascular function in a rat model of prenatal hypoxia. Pharmacol Res 2018; 134: 332-42. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.05.006.

6- Basak S, Vilasagaram S, Duttaroy AK. Maternal dietary deficiency of n-3 fatty acids affects metabolic and epigenetic phenotypes of the developing fetus. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2020; 158: 102109. https://doi.org/10.1016/j.plefa.2020.102109.

7- Best K, Makrides M. Possible protective effect of prenatal omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids supplementation on persistent wheeze and asthma in early childhood. BMJ Evid Based Med 2017; 22(3): 104. http://dx.doi.org/10.1136/ebmed-2017-110696.

8- Burton GJ, Cindrova-Davies T, wa Yung H, Jauniaux E. Hypoxia and reproductive health: Oxygen and development of the human placenta. Reproduction 2021; 161(1): 53-65. https://doi.org/10.1530/REP-20-0153.

9- Coan PM, Fowden AL, Constancia M, Ferguson-Smith AC, Burton GJ, Sibley CP. Disproportional effects of Igf2 knockout on placental morphology and diffusional exchange characteristics in the mouse. Physiol J 2008; 586(20): 5023-32. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.157313.

10- Cornelius DC, Hogg JP, Scott J, Wallace K, Herse F, Moseley J, et al. Administration of interleukin-17 soluble receptor C suppresses TH17 cells, oxidative stress, and hypertension in response to placental ischemia during pregnancy. Hypertension 2013; 62(6): 1068-73. https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01514.

11- Cuffe JS, Walton SL, Singh RR, Spiers JG, Bielefeldt-Ohmann H, Wilkinson L, et al. Mid-to late term hypoxia in the mouse alters placental morphology, glucocorticoid regulatory pathways and nutrient transporters in a sex-specific manner. Physiol J 2014; 592(14): 3127-41. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.272856.

12- Elshani B, Kotori V, Daci A. Role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in gestational diabetes, maternal and fetal insights: current use and future directions. J Matern Fetal Neonatal Med 2021; 34(1): 124-36. https://doi.org/10.1080/14767058.2019.1593361.

13- Evans L, Myatt L. Sexual dimorphism in the effect of maternal obesity on antioxidant defense

DOI: 10.22034/JAR.2023.2326 مقاله پژوهشی، صفحات۲۶۶-۲۴۹

mechanisms in the human placenta. Placenta. 2017; 51: 64-9. https://doi.org/10.1016/j.placenta.2017.02.004.

14- Fuhrmann DC, Brüne B. Mitochondrial composition and function under the control of hypoxia. Redox Biol 2017; 12: 208-15. https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.02.012.

15- Fusar-Poli P, Borgwardt S, Crescini A, Deste G, Kempton MJ, Lawrie S, Mc Guire P, Sacchetti E. Neuroanatomy of vulnerability to psychosis: a voxel-based meta-analysis. Neurosci Biobehav Rev 2011; 35(5): 1175-85. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.12.005.

16- Ganguly E, Aljunaidy MM, Kirschenman R, Spaans F, Morton JS, Phillips TE, et al. Sex-specific effects of nanoparticle-encapsulated MitoQ (nMitoQ) delivery to the placenta in a rat model of fetal hypoxia. Front physiol 2019; 10: 562. https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00562.

17- Garrel C, Alessandri JM, Guesnet P, Al-Gubory KH. Omega-3 fatty acids enhance mitochondrial superoxide dismutase activity in rat organs during post-natal development. Int J Biochem Cell Biol 2012; 44(1): 123-31. https://doi.org/10.1016/j.biocel.2011.10.007.

18- Iraz M, Erdogan H, Ozyurt B, Ozugurlu F, Ozgocmen S, Fadillioglu E. Omega-3 essential fatty acid supplementation and erythrocyte oxidant/antioxidant status in rats. Ann Clin Lab Sci 2005; 35(2): 169-73.

19- Ji B, Lei J, Xu T, Zhao M, Cai H, Qiu J, et al. Effects of prenatal hypoxia on placental glucocorticoid barrier: Mechanistic insight from experiments in rats. Reprod Toxicol 2022; 110: 78-84. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2022.03.016.

20- Jones ML, Mark PJ, Mori TA, Keelan JA, Waddell BJ. Maternal dietary omega-3 fatty acid supplementation reduces placental oxidative stress and increases fetal and placental growth in the rat. Biol Reprod 2013; 88(2): 37-41. https://doi.org/10.1095/biolreprod.112.103754.

21- Khazaeel K, Sadeghi A, Ghotbeddin Z, Basir Z, Aliheidari M, Nooraee A. The effect of fish oil on histomorphometric changes of cerebrum and cerebellum caused by hypoxia during pregnancy in female rats' offsprings: A Descriptive Study. J Rafsanjan Univ Med Sci 2022; 20(10): 1083-98. https://doi.org/10.52547/jrums.20.10.1083.

22- Khazaeel K, Sadeghi A, Ghotbeddin Z, Yaghoubi H. Effect of Fish Oil on Hypoxia-Induced Apparent Congenital Abnormalities and Fetal Body Dimensions during Gestation in Rat. J Gorgan Univ Med Sci 2022; 24(3): 26-33.

23- Khazaeel K, Sadeghi A, Jamshidian J, Jahangiri R. Protective Effect of Bromelain Against Bisphenol-A Induced Toxicity on the Rat Placental Histomorphometry. J Isfahan Med Sch 2022; 40(679): 524-31.

24- Marzioni D, Tamagnone L, Capparuccia L, Marchini C, Amici A, Todros T, et al. Restricted innervation of uterus and placenta during pregnancy: evidence for a role of the repelling signal Semaphorin 3A. Dev Dyn 2004; 231(4): 839-48. https://doi.org/10.1002/dvdy.20178.

25- Roszkos R, Tóth T, Mézes M. practical use of n-3 fatty acids to improve reproduction parameters in the context of modern sow nutrition. Animals 2020; 10(7): 1141. https://doi.org/10.3390/ani10071141.

26- Sadeghi A, Khazaeel K, Tabandeh MR, Ezzati Givi M, Nejaddehbashi F. Isolation, Characterization and Differentiation of Rat Fetal Mesenchymal Stem Cells into Osteogenic and Adipogenic Cells. J Isfahan Med Sch 2023; 41(713): 196-205. https://doi.org/10.48305/JIMS.V41.I713.0196.

27- Silvestro S, Calcaterra V, Pelizzo G, Bramanti P, Mazzon E. Prenatal hypoxia and placental oxidative stress: Insights from animal models to clinical evidences. Antioxidants 2020; 9(5): 414. https://doi.org/10.3390/antiox9050414.

28- Song JH, Moon KY, Lee SC, Kim SS. Inhibition of hypoxia-inducible factor-1α and vascular endothelial growth factor by chrysin in a rat model of choroidal neovascularization. Int J Mol Sci 2020; 21(8): 2842. https://doi.org/10.3390/ijms21082842.

29- Sutovska H, Babarikova K, Zeman M, Molcan L. Prenatal hypoxia affects foetal cardiovascular regulatory mechanisms in a sex-and circadian-dependent manner: A review. Int J Mol Sci 2022; 23(5): 2885. https://doi.org/10.3390/ijms23052885.

30- Thompson LP, Al-Hasan Y. Impact of oxidative stress in fetal programming. J Pregnancy 2012; 2012: 582748.

31- Thompson LP, Chen L, Polster BM, Pinkas G, Song H. Prenatal hypoxia impairs cardiac mitochondrial and ventricular function in guinea pig offspring in a sex-related manner. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol AM J 2018; 315(6): 1232-41. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00224.2018.

مقاله پژوهشی، صفحات۲۶۶-۲۴۹ DOI: 10.22034/JAR.2023.2326

32- Zhao H, Wong RJ, Stevenson DK. The impact of hypoxia in early pregnancy on placental cells. Int J Mol Sci 2021; 22(18): 9675. https://doi.org/10.3390/ijms22189675.

Evaluation of the protective effect of fish oil against toxicity caused by hypoxia during pregnancy on histomorphometry of rat placenta

Khazaeel K.[1,2*], Sadeghi A.[1], Jahangiri R.[3] and Ghotbeddin Z.[4]

[1] Dept. of Basic Sciences, Division of Anatomy and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. of Iran

[2] Stem Cells and Transgenic Technology Research Center (STTRC), Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. of Iran

[3] School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I. R. of Iran.

[4] Dept. of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. of Iran

Abstract

Hypoxia during pregnancy causes pathologies in placental trophoblast cells that can adversely affect the maternal adjustments to pregnancy and fetal health. Fish oil prevents fetal disorders during pregnancy with its antioxidant properties. This study was conducted to determine the effect of fish oil on placental histomorphometric changes caused by hypoxia during pregnancy in rats. In this experimental study, 24 pregnant Wistar rats were divided into 4 control groups, hypoxia, fish oil (1 ml/kg) and hypoxia+fish oil. The hypoxia model was established between days 6 and 15 of gestation, and fish oil was administered by gavage. On the 20th day of pregnancy, placental morphometric examinations including weight, diameter and thickness of the placenta were performed. The histological structure of placentas was evaluated using general and specific staining. Hypoxia during pregnancy caused a significant decrease in the weight, diameter and thickness of the placenta, and the thickness of the labyrinth and spongium layers compared to the control group ($p<0.05$). Also, hypoxia significantly increased the number of giant cells and decidua layer thickness ($p<0.05$). Administering fish oil with hypoxia during pregnancy significantly increased the weight, diameter, and thickness of the placenta, the number of glycogen cells and the thickness of the labyrinth and spongiosum layers and significantly decreased the number of giant cells, and the thickness of decidua layer compared to the hypoxia group ($p<0.05$). The hypoxia during pregnancy can have destructive effects on placental tissue, and the administration of fish oil can partially prevent the detrimental effects of hypoxia on placental tissue.

Key words: Hypoxia, Histomorphometry, Fish oil, Placenta, Rat