






Original Paper

Effect of Fish Oil on Hypoxia-Induced Apparent Congenital Abnormalities and Fetal Body Dimensions during Gestation in Rat

Kaveh Khazaeel (Ph.D)^{*1} , Abbas Sadeghi² , Zohreh Ghotbeddin (Ph.D)³ , Hoshyar Yaghoubi (DVM)⁴ 

¹ Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. ² Ph.D Candidate in Comparative Anatomy and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. ³ Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. ⁴ DVM Graduate, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Abstract

Background and Objective: Hypoxia is one of the most common clinical stresses that occur during pregnancy, which has adverse effects on fetal development. Fish oil, with its antioxidant properties, prevents fetal disorders during pregnancy. This study was conducted to determine the effects of fish oil on apparent congenital abnormalities and fetal dimensions caused by hypoxia during gestation in rats.

Methods: In this experimental study, 36 female pregnant Wistar rats were divided into 6 groups of control, hypoxia, fish oil 0.5 ml, fish oil 1 ml, hypoxia+fish oil 0.5 ml, and hypoxia + fish oil 1 ml. Fish oil was administered by gavage, and the hypoxia model was established between 6 and 15 days of gestation by 3 hours of daily exposure to 10% oxygen and 90% nitrogen. On the 20th day of pregnancy, the embryos were removed from the uterus. First, the number of obtained embryos from each group was counted. Then, in terms of apparent abnormalities, the number of live fetuses and fetal resorption was evaluated. Finally, the length and weight of the fetuses were measured.

Results: The frequency of embryos with apparent abnormalities in the hypoxia and control groups was 18.18% and nil, respectively. The frequency of fetal resorptions in the hypoxia and control groups was 27.27% and 1.92%, respectively. Moreover, fetal weight and length were significantly reduced in the hypoxia group compared with the control group ($P<0.05$). However, the average weight and length of fetuses in the hypoxia groups receiving fish oil showed a significant increase compared to the hypoxia group ($P<0.05$).

Conclusion: Hypoxia during pregnancy in rats reduces fetal body dimensions and increases fetal abnormalities. However, fish oil can reduce the harmful effects of hypoxia on apparent congenital abnormalities and fetal body dimensions during pregnancy.

Keywords: Fish Oil, Hypoxia, Congenital Abnormalities, Fetus, Rat

*Corresponding Author: Kaveh Khazaeel (Ph.D), E-mail: k.khazaeel@scu.ac.ir

Received 26 Sep 2021

Final Revised 19 Apr 2022

Accepted 23 May 2022

Published Online 26 Dec 2022

Cite this article as: 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. [Article in Persian]





تحقیقی

اثر روغن ماهی بر ناهنجاری‌های مادرزادی ظاهری و ابعاد بدن جنین ناشی از هیپوکسی دوران بارداری در موش صحرایی

دکتر کاوه خزائیل*^۱، عباس صادقی^۲، دکتر زهره قطب‌الدین^۳، دکتر هوشیار یعقوبی^۴

^۱ استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. ^۲ دانشجوی دکتری تخصصی آناتومی و جنین‌شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. ^۳ دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. ^۴ دانش‌آموخته دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: هیپوکسی به عنوان یکی از رایج‌ترین استرس‌های بالینی در دوران بارداری اثرات مخربی بر تکامل جنین دارد. روغن ماهی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود از اختلالات جنین در طول بارداری جلوگیری می‌کند. این مطالعه به منظور تعیین اثر روغن ماهی بر ناهنجاری‌های مادرزادی ظاهری و ابعاد بدن جنین ناشی از هیپوکسی دوران بارداری در موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۳۶ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار باردار به ۶ گروه شش تایی کنترل، هیپوکسی، روغن ماهی ۰/۵ میلی‌لیتر، روغن ماهی ۱ میلی‌لیتر، هیپوکسی+روغن ماهی ۰/۵ میلی‌لیتر و هیپوکسی+روغن ماهی ۱ میلی‌لیتر تقسیم شدند. تجویز روغن ماهی به صورت خوراکی (گاوآذ) و ایجاد مدل هیپوکسی بین روزهای ۶ تا ۱۵ بارداری به صورت قرار گرفتن روزانه به مدت ۳ ساعت در معرض هوایی با شدت ۱۰ درصد اکسیژن و ۹۰ درصد نیتروژن انجام شد. در روز ۲۰ بارداری برای نمونه‌گیری جنین‌ها از رحم خارج شدند. ابتدا تعداد جنین‌های حاصله از هر گروه شمارش شد. سپس از نظر ناهنجاری‌های ظاهری، تعداد جنین‌های زنده و جذب شده ارزیابی شدند. در نهایت طول و وزن جنین‌ها اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: میزان جنین‌های دارای ناهنجاری ظاهری در گروه‌های هیپوکسی و کنترل به ترتیب ۱۸/۱۸ درصد و صفر درصد ($P < 0/05$) و میزان جنین‌های جذب شده در گروه‌های هیپوکسی و کنترل به ترتیب ۲۷/۲۷ درصد و ۱/۹۲ درصد بودند ($P < 0/05$). همچنین میانگین وزن و طول جنین‌ها در گروه هیپوکسی نسبت به گروه کنترل کاهش آماری معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). در حالی که میانگین وزن و طول جنین‌ها در گروه‌های هیپوکسی دریافت‌کننده روغن ماهی افزایش آماری معنی‌داری نسبت به گروه هیپوکسی نشان دادند ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: هیپوکسی طی دوران بارداری در موش‌های صحرایی سبب کاهش ابعاد جنین و افزایش ناهنجاری‌های جنینی گردید. با این حال روغن ماهی توانست اثرات مضر ناشی از هیپوکسی در دوران بارداری بر ناهنجاری‌های مادرزادی ظاهری و ابعاد بدن جنین را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: روغن ماهی، هیپوکسی، ناهنجاری‌های مادرزادی، جنین، موش صحرایی

* نویسنده مسؤل: کاوه خزائیل، پست الکترونیکی k.khazaeil@scu.ac.ir

نشانی: اهواز، بلوار گلستان، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه، بخش آناتومی و جنین‌شناسی، تلفن و نمابر ۰۶۱-۲۲۲۲۶۲۷۶

وصول ۱۴۰۰/۷/۴ اصلاح نهایی ۱۴۰۱/۱/۳۰ پذیرش ۱۴۰۱/۳/۲ انتشار ۱۴۰۱/۱۰/۵

مقدمه

رشد و تکامل جنین یک فرایند پیچیده و پویا است و برای تضمین رشد ایده‌آل و مطلوب وجود تعامل مناسب بین مادر، جفت و جنین ضروری است.^۱ مطالعات اپیدمیولوژیک، بالینی و تجربی زیادی نشان می‌دهند که استرس دوران بارداری می‌تواند آسیب‌های جزئی و یا حتی شدیدی به بافت، ساختار و عملکرد جنین وارد کند و در نهایت باعث تسریع و افزایش احتمال ابتلا به برخی بیماری‌ها در دوران بعد از تولد شود.^۲ هیپوکسی به عنوان یکی از رایج‌ترین استرس‌های بالینی در دوران بارداری اثرات مخربی بر تکامل جنین دارد که فشار

خون بالای مادران در دوران بارداری و آلودگی محیط زیست باعث هیپوکسی جنین می‌شوند.^۳ هیپوکسی دوران بارداری مهاجرت سلول‌های عصبی و بیان انتقال‌دهنده‌های عصبی در طول دوره جنینی را به تأخیر می‌اندازد و علاوه بر افزایش خطر سقط جنین باعث اختلال رشد و نمو عصبی در دوران کودکی نیز می‌شود.^۴ به‌طور مشابه با انسان، هیپوکسی قبل از زایمان باعث محدودیت رشد جنینی (Fetal growth restriction: FGR) در جوندگان می‌شود. محدودیت رشد جنین ارتباط نزدیکی با افزایش خطر ابتلا به

پرفشاری خون، بیماری‌های قلبی - عروقی، مقاومت به انسولین، دیابت نوع ۲، چاقی و سایر اختلالات عصبی، رفتاری، روانشناختی در بزرگسالی دارد.^۲ مطالعات انسانی و حیوانی نقش افزایش مقاومت عروقی رحم و هیپوکسی جفت را در پره اکلامپسی و محدودیت رشد جنین/داخل رحمی (FGR/IUGR) در ارتباط با هیپوکسی حاملگی نشان داده‌اند. هیپوکسی حاملگی اثر عمده‌ای بر میتوکندری سلول‌های جفت رحمی برای تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species: ROS) دارد که منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود. افزایش ROS در میتوکندری به نوبه خود با آسیب رساندن به ماکرومولکول‌های سلولی باعث اختلال عملکرد جفت رحمی می‌شود که زمینه ساز پاتوژنز پره اکلامپسی و FGR است.^۵ حساسیت جنین در حال رشد به هیپوکسی، بستگی به ترکیب لیپیدی غشای سلول‌ها، میزان پراکسیداسیون لیپید و دفاع آنتی‌اکسیدانی دارد.^۶ افزایش استرس اکسیداتیو به دنبال هیپوکسی بارداری یک مکانیسم مهم برای محدودیت رشد جنین است. هیپوکسی داخل رحمی با افزایش تولید ROS تاثیر مخربی بر تکامل جنین و آسیب بافت‌های حساس دارد.^۷ نتایج مطالعات پیشین نشان می‌دهد که افزایش استرس اکسیداتیو در جفت مسؤول تغییرات در رشد جنین است. به طور خاص، استرس اکسیداتیو نقش کلیدی در بیماری‌های قلبی، عروقی و عصبی و اختلالات عملکرد تولید مثل ایفا می‌کند. علاوه بر این، یافته‌های مختلف نشان می‌دهد که استرس اکسیداتیو ناشی از هیپوکسی قبل از تولد با عوارض بارداری مرتبط است که مسؤول تغییرات در برنامه ریزی جنین است. به این ترتیب، هیپوکسی جنین، فرزندان را مستعد ابتلا به ناهنجاری‌های مادرزادی می‌کند.^۸ تغذیه و اکسیژن هر دو برای رشد مطلوب جنین ضروری هستند و با توجه به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کم جنین، آسیب‌پذیری آن نسبت به مولکول‌های اکسیدان بیشتر است.^۹ مطالعات نشان داده‌اند که تجویز ویتامین C و ملاتونین در گوسفند باردار با افزایش تولید NO و کاهش تولید آنیون سوپر اکسید باعث افزایش خونرسانی به جنین می‌شود و بین کاهش اکسیژن و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در دوران بارداری و اثر آن بر تکامل و رشد جنین ارتباط مستقیم وجود دارد.^{۱۰} با این حال، برای اجازه دادن به استفاده از این آنتی‌اکسیدان‌ها در عمل بالینی برای ارتقای سلامت در اوایل زندگی داخل رحمی، در جنین‌ها و کودکان مورد بحث است.^۸

دو کوراهاگزانوتیک اسید و آراشیدونیک اسید از اسیدهای چرب ضروری هستند که نقش حیاتی برای تکامل جنین در دوران رحمی دارند و از مادر به جنین منتقل می‌شوند. بنابراین مصرف روغن ماهی با داشتن این دو اسید چرب باعث افزایش زمان بارداری و جلوگیری از زایمان زودرس و افزایش وزن زاده‌ها می‌شود و نقش کلیدی برای تکامل جنین در طی دوران بارداری دارد.^{۱۱} این اسیدهای چرب با

خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کرده و باعث کاهش مالون دی آلدئید و محافظت بافت در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن در موش صحرایی می‌شوند.^{۱۲}

این مطالعه به منظور تعیین اثر روغن ماهی بر ناهنجاری‌های مادرزادی ظاهری و ابعاد بدن جنین ناشی از هیپوکسی دوران بارداری در موش صحرایی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۶ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم طی سال ۱۴۰۰ انجام شد. از ۱۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار برای جفت‌گیری استفاده شد. مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق (EE/97.24.3.49918/scu.ac.ir) دانشگاه شهید چمران اهواز قرار گرفت. تمام مراحل آزمایش بر اساس دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز طراحی و اجرا گردید. حیوانات تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی - تاریکی و در دمای 23 ± 2 درجه سانتی گراد نگهداری شدند و به صورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند.

برای انجام عمل جفت‌گیری، هر 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. موش‌های جفت‌گیری شده درون قفس‌های جداگانه نگهداری و به‌طور تصادفی به ۶ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند.

گروه کنترل: دریافت کننده نرمال سالیین به صورت گاوآژ طی روزهای ۶ تا ۱۵ بارداری.

گروه تجربی اول (هیپوکسی): مدل هیپوکسی با قرارگیری حیوانات در معرض شدت اکسیژن ۱۰ درصد و نیتروژن ۹۰ درصد در جعبه هیپوکسی در روز ۶ تا ۱۵ بارداری، هر روز به مدت ۳ ساعت به روش مزمن ایجاد شد.^{۱۳}

گروه تجربی دوم: دریافت کننده روغن ماهی به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر به صورت گاوآژ طی روزهای ۶ تا ۱۵ بارداری.

گروه تجربی سوم: دریافت کننده روغن ماهی به میزان یک میلی‌لیتر به صورت گاوآژ طی روزهای ۶ تا ۱۵ بارداری.

گروه تجربی چهارم: گروه هیپوکسی توام با دریافت روغن ماهی به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر به صورت گاوآژ طی روزهای ۶ تا ۱۵ بارداری.

گروه تجربی پنجم: گروه هیپوکسی توام با دریافت روغن ماهی به میزان یک میلی‌لیتر به صورت گاوآژ طی روزهای ۶ تا ۱۵ بارداری.^{۱۴}

روغن ماهی از شرکت سیگما (Sigma-Aldrich) (CAS Number: 8002-50-4) خریداری شد.

برای جلوگیری از اثر ریتم شبانه‌روزی حیوان بر آزمایش‌ها

کنترل کاهش آماری معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$). در حالی که تعداد و درصد جنین‌های زنده در گروه‌های تجربی چهارم و پنجم نسبت به گروه هیپوکسی افزایش آماری معنی‌داری داشت ($P < 0/05$) (جدول یک).

تعداد و درصد جنین‌های جذب شده در گروه هیپوکسی نسبت به گروه‌های دیگر افزایش یافت. اگرچه در گروه‌های تجربی چهارم و پنجم به ترتیب ۲ سر و یک سر جنین جذب شده مشاهده شد که در مقایسه با گروه هیپوکسی کاهش داشت. در گروه تجربی سوم هیچگونه جذب جنینی مشاهده نشد (جدول یک).

ناهنجاری‌های ظاهری به صورت ناهنجاری هماتوم گردن و ناهنجاری اگزوسفالی تنها در گروه هیپوکسی و گروه تجربی دوم مشاهده شدند. تعداد ۸ سر از جنین‌های گروه هیپوکسی دارای ناهنجاری ظاهری هماتوم گردن (۵ سر) و اگزوسفالی (۳ سر) بودند. در گروه‌های کنترل، تجربی دوم، تجربی سوم و تجربی پنجم هیچگونه ناهنجاری ظاهری مشاهده نشد. با این حال در گروه تجربی چهارم تعداد ۲ سر از جنین‌ها دارای ناهنجاری ظاهری هماتوم گردن بودند (جدول یک).

میانگین وزن جنین‌های گروه‌های تجربی دوم و سوم در مقایسه با گروه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد. میانگین وزن جنین‌های گروه هیپوکسی در مقایسه با گروه کنترل کاهش آماری معنی‌داری نشان داد ($P < 0/001$). در حالی که میانگین وزن جنین‌های گروه تجربی چهارم ($P < 0/001$) و گروه تجربی پنجم ($P < 0/001$) افزایش آماری معنی‌داری نسبت به گروه هیپوکسی یافت. همچنین میانگین وزن جنین‌های گروه تجربی چهارم ($P < 0/012$) و گروه تجربی پنجم ($P < 0/001$) در مقایسه با گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری نشان داد (نمودار یک).

میانگین طول جنین‌های گروه هیپوکسی کاهش آماری معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل داشت ($P < 0/001$). میانگین طول جنین‌های گروه‌های تجربی چهارم و پنجم افزایش آماری معنی‌داری نسبت به گروه هیپوکسی نشان داد ($P < 0/001$). با این حال، میانگین طول جنین‌های گروه‌های تجربی چهارم و پنجم نسبت به گروه کنترل کاهش آماری معنی‌داری یافت ($P < 0/001$). میانگین طول جنین‌های گروه‌های تجربی دوم و سوم اختلاف آماری معنی‌داری نسبت به

همه آزمایش‌ها در زمان روشنایی بین ساعت‌های ۸ الی ۱۶ انجام گردید.

برای اعمال هیپوکسی از یک محفظه شیشه‌ای حاوی یک فن استفاده شد که دریاچه ورودی و خروجی هوا به یک کپسول اکسیژن و یک کپسول نیتروژن متصل شده بود. برای ایجاد مدل هیپوکسی موش‌های بارداری از روز ۶ تا ۱۵ بارداری داخل جعبه قرار گرفتند و با تنظیم ورود اکسیژن ۱۰ درصد و نیتروژن ۹۰ درصد به داخل جعبه، به مدت پنج دقیقه دریاچه ورود و خروج هوا باز نگه داشته شد تا هوای داخل جعبه خارج و خلاء ایجاد شود. تعیین میزان اکسیژن محفظه به کمک دستگاه اکسی متر تنظیم شد. برای مخلوط شدن کامل هوای داخل جعبه هیپوکسی فن روشن شد. سپس دریاچه 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 گرفتند.^{۱۵}

در روز بیستم بارداری موش‌ها توسط مخلوط کتامین (۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم - زایلازین ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش و سپس آسان‌کشی شدند. پس از باز کردن محوطه شکمی و برش شاخ رحم، جنین‌ها از رحم موش‌ها بیرون آورده شده و بلافاصله از کیسه آمیون خارج شدند. جنین‌های همه گروه‌ها از نظر وجود ناهنجاری‌های ظاهری در نواحی مختلف بدن ارزیابی شدند. تعداد جنین‌های زنده و جذب شده (Fetal resorption) گروه‌ها بررسی شد. طول جنین‌ها با استفاده از کولیس دیجیتال (CA2, China) و وزن جنین‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال (CAS CA, South Korea) اندازه‌گیری شدند.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-24 تجزیه و تحلیل شدند. برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و تست تعقیبی Tukey در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها

تعداد جنین‌های به دست آمده در گروه هیپوکسی و گروه تجربی چهارم نسبت به گروه کنترل و گروه‌های تجربی دوم و سوم که روغن ماهی را دریافت نموده بودند، کاهش آماری معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$).

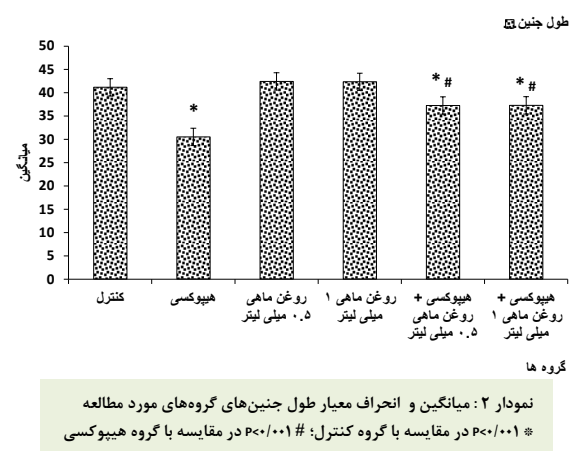
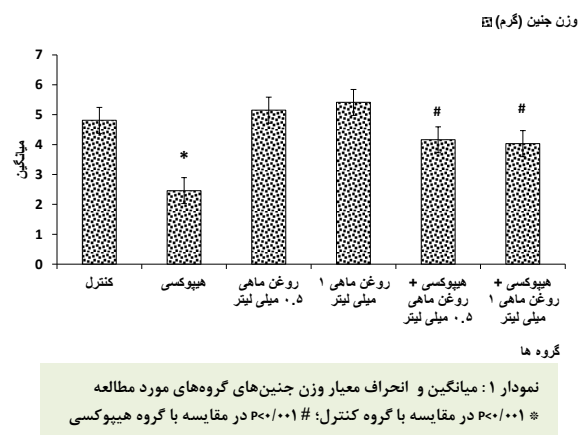
تعداد و درصد جنین‌های زنده گروه هیپوکسی نسبت به گروه

جدول ۱: فراوانی جنین‌های حاصله، زنده، جذب شده و دارای ناهنجاری در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها (n=۶)	تعداد جنین‌های حاصله	جنین‌های زنده تعداد (درصد)	جنین‌های جذب شده تعداد (درصد)	جنین‌های دارای ناهنجاری تعداد (درصد)
کنترل (نرمال سالین)	۵۲	۵۱ (۹۸/۰۷)	۱ (۱/۹۲)	۰ (۰)
گروه تجربی اول (هیپوکسی)	۴۴ *	۳۲ (۷۲/۷۲)	۱۲ *	۸ (۱۸/۱۸)
گروه تجربی دوم (روغن ماهی ۰/۵ میلی‌لیتر)	۵۰	۴۹ (۹۸)	۱ (۲)	۰ (۰)
گروه تجربی سوم (روغن ماهی ۱ میلی‌لیتر)	۵۶	۵۶ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
گروه تجربی چهارم (هیپوکسی + روغن ماهی ۰/۵ میلی‌لیتر)	۴۵ *	۴۳ # (۹۵/۵۵)	۲ # (۴/۴۴)	۲ # (۴/۴۴)
گروه تجربی پنجم (هیپوکسی + روغن ماهی ۱ میلی‌لیتر)	۴۹ #	۴۸ # (۹۷/۹۵)	۱ # (۲/۰۴)	۰ # (۰)

* $P < 0/05$ در مقایسه با گروه کنترل؛ # $P < 0/05$ در مقایسه با گروه هیپوکسی

گروه کنترل نشان نداد (نمودار ۲).



بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، هیپوکسی در دوران بارداری باعث افزایش تعداد جنین جذب شده و نیز کاهش تعداد جنین‌های زنده گردید. همسو با مطالعه حاضر، مطالعات در ارتباط با تاثیر هیپوکسی بر ناهنجاری‌های جنینی نشان داده‌اند که هیپوکسی دوران بارداری عوارض مختلفی را در روند تشکیل جنین ایجاد می‌کند که شامل جذب جنینی، مرگ جنین داخل رحم و زایمان پیش از موعد است.^{۱۶} همچنین مطالعات دیگری در مورد تاثیر هیپوکسی مزمن بارداری بر میزان تلفات جنین نشان داد که هیپوکسی در دوران بارداری موجب افزایش تلفات جنین و همچنین کاهش تعداد جنین‌های زنده می‌شود.^{۱۷} مکانیسم احتمالی برای کاهش تعداد جنین‌های زنده و افزایش تعداد جنین‌های جذب شده به دنبال هیپوکسی، افزایش رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو است. مطالعات انجام شده در مورد اندازه‌گیری پارامترهای استرس اکسیداتیو در سرم مادران نشان دهنده افزایش معنی‌دار استرس اکسیداتیو در اثر هیپوکسی بوده است.^{۱۸} در این راستا مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که هیپوکسی متناوب در موش‌های آزمایشگاهی باعث افزایش بیان و فعالیت iNOS در بافت‌ها شده و با افزایش تولید

نیتریک اکسید روند تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد.^{۱۹} مطالعات دیگر نیز بیانگر افزایش استرس اکسیداتیو و اختلال در فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز در موش‌های بالغی است که مادران آنها در معرض هیپوکسی بارداری بودند.^{۲۰} همچنین استرس اکسیداتیو ناشی از هیپوکسی تاثیر مستقیمی بر محدودیت رشد جنینی (FGR) در داخل رحم دارد.^{۲۱} محدودیت رشد جنینی بعد از زایمان زودرس به عنوان دومین علت مرگ و میر جنین‌ها شناخته می‌شود که می‌تواند حدود شش درصد از کل بارداری‌ها را تحت تاثیر قرار دهد.^{۲۲} افزایش رادیکال‌های آزاد یک عامل مهم در پاتوفیزیولوژی هیپوکسی است. به طوری که هیپوکسی بارداری باعث افزایش تخریب DNA و پراکسیداسیون لیپیدی شده که در نهایت از طریق افزایش رادیکال‌های آزاد و تولید ROS، باعث افزایش رونویسی از mRNA HIF (Hypoxia-inducible factor) می‌شود.^{۲۳} بنابراین استرس اکسیداتیو ناشی از هیپوکسی با جلوگیری از رشد و تکامل جنین در رحم مادر و ایجاد ناهنجاری در ارگان‌های مختلف باعث افزایش تعداد جنین‌های جذب شده و کاهش تعداد جنین‌های زنده می‌شود.^{۲۴}

در مطالعه حاضر هیپوکسی باعث افزایش معنی‌دار ناهنجاری‌های ظاهری شد. همسو با مطالعه حاضر، بسیاری از مطالعات تجربی نیز نشان داده‌اند که هیپوکسی در دوران بارداری باعث افزایش ناهنجاری‌های جنینی در موش صحرایی می‌شود.^{۲۴} اکثر مطالعات اثر هیپوکسی در بروز ناهنجاری‌های مختلف جنینی از جمله نقص در سیستم عصبی^{۲۵} و سیستم قلبی - عروقی^{۲۶} را نشان داده‌اند. علاوه بر این هیپوکسی ممکن است با اختلال در الگوی آپوپتوز و همچنین اختلال در تعادل هورمون‌های جنسی (تستوسترون و استرادیول) باعث به تاخیر افتادن رشد جنین شود. این امر نشان می‌دهد که هیپوکسی ممکن است رشد جنین و ناهنجاری‌های تکاملی را نیز تحت تاثیر قرار دهد.^{۲۷} جنین‌های پستانداران درجه‌ای از انعطاف‌پذیری شگفت‌انگیز را در برابر هیپوکسی نشان می‌دهند. بسیاری از جنین‌هایی که در مرحله ارگانوژنزند؛ قادر به زنده ماندن ۳۰ تا ۶۰ دقیقه از هیپوکسی هستند. با این حال، در برخی از جنین‌ها این درجه از هیپوکسی باعث رشد غیرطبیعی، به ویژه نقص‌های کاهش عرضی اندام می‌شود. این ناهنجاری‌ها با خونریزی، ادم و نکروز بافتی پیش می‌آیند.^{۲۸} سایر قسمت‌های جنین نیز مستعد این آسیب ناشی از هیپوکسی هستند که شامل غده تناسلی، بینی در حال رشد، دم و سیستم عصبی مرکزی هستند. همچنین نقایص دیگر در مدل‌های حیوانی تحت هیپوکسی قبل از تولد شامل شکاف لب، هیپوپلازی فک بالا و نقایص قلبی مشاهده شده است.^{۲۹} مطالعات in vivo و in vitro نشان داده‌اند که هیپوکسی از طریق کاهش تقسیمات میتوزی، تکثیر، آپوپتوز و انحرافات کروموزومی

برای کمک به مقابله با استرس اکسیداتیو و در نتیجه جلوگیری یا به تاخیر انداختن شروع پره‌اکلامپسی و بهبود سلامت مادر و نوزاد موثر باشد.^{۳۶} کاربرد ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیر روغن ماهی می‌تواند در بهبود اختلالات ایجاد شده به دنبال هیپوکسی مفید باشد. مکانیسم احتمالی برای اثر محافظتی روغن ماهی در مقابل هیپوکسی، کاهش استرس اکسیداتیو است.^{۳۷} نتایج مطالعات نشان‌دهنده کاهش استرس اکسیداتیو در اثر تیمار با روغن ماهی است.^{۳۸} در مطالعه‌ای روغن ماهی از طریق کاهش استرس اکسیداتیو در موش‌های تحت هیپوکسی مزمن بارداری، علاوه بر جلوگیری از تغییرات مورفومتر مغز و اختلال حافظه در زاده‌های موش صحرایی، از کاهش وزن و حجم مغز جنین‌ها نیز جلوگیری نمود.^{۳۹} همچنین مشخص شده است که پیش‌درمانی با دوکوزاهگزانوئید اسید، سلول‌ها را از آسیب اکسیداتیو القا شده با H₂O₂ محافظت می‌کند و باعث کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود.^{۴۰} در این مطالعه نیز احتمالاً روغن ماهی طی اعمال هیپوکسی مزمن بارداری از طریق خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث بهبود وزن و طول جنین‌ها شده است.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم بررسی پارامترهای استرس اکسیداتیو متعاقب مواجهه با هیپوکسی و دریافت روغن ماهی اشاره نمود. پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آینده، عوامل دیگری از جمله بررسی ناهنجاری‌های جنینی از طریق رنگ‌آمیزی آلزارین قرمز و آلیسین آبی و نیز سنجش عوامل استرس اکسیداتیو دخیل در هیپوکسی و اثرات آنتی‌اکسیدانی روغن ماهی بر پارامترهای استرس اکسیداتیو مورد مطالعه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که هیپوکسی مزمن بارداری منجر به اختلالات تکاملی جنین از طریق افزایش ناهنجاری‌های جنینی و تعداد جنین‌های جذب شده، کاهش تعداد جنین‌های زنده و همچنین اختلال در وزن و طول جنین می‌شود. تیمار با روغن ماهی همزمان با اعمال هیپوکسی مزمن بارداری، می‌تواند اختلالات جنینی ایجاد شده ناشی از هیپوکسی در جنین‌های موش صحرایی را کاهش دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی (شماره ۴۰۰/۲۴/۳/۱۴۱) مصوب دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز بود. بدین وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز در قالب پژوهانه در انجام این مطالعه تشکر و قدردانی می‌گردد. بین نویسندگان تضاد منافی وجود ندارد.

References

1. Staud F, Karahoda R. Trophoblast: The central unit of fetal growth, protection and programming. *Int J Biochem Cell Biol.* 2018 Dec; 105: 35-40. DOI: 10.1016/j.biocel.2018.09.016
2. Dudley KJ, Li X, Kobor MS, Kippin TE, Bredy TW. Epigenetic

سلول‌های بنیادی جنینی انسان را تحت تاثیر قرار داده و بنابراین با افزایش ناهنجاری‌های کروموزومی و آپوپتوز باعث افزایش ناهنجاری‌های جنینی می‌شود.^{۳۰}

در مطالعه ما میانگین وزن و طول جنین‌ها در اثر هیپوکسی کاهش معنی‌داری یافت. هیپوکسی / ایسکمی شدید با کاهش شدید ذخایر انرژی بافت‌ها منجر به وقایع بیوشیمیایی کوتاه مدت نظیر اسیدوز، سمیت تحریکی گلوتامات، تولید نیتریک اکسید و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. این وقایع بیوشیمیایی به سهم خود تشکیل اندام‌های جنینی را به تاخیر می‌اندازد و به آپوپتوز و التهاب کمک می‌کند.^{۳۱} در راستای مطالعه حاضر، در مطالعات پیشین نیز نشان داده شده است که هیپوکسی مزمن در دوران بارداری منجر به کاهش قابل توجه وزن بدن جنین می‌شود.^{۳۲} در مطالعاتی دیگر جنین‌های مادران در معرض هیپوکسی از روز ۴ تا روز ۲۱ بارداری، ۱۲/۵ درصد کاهش وزن هنگام تولد داشتند. همچنین هیپوکسی دوران بارداری نه تنها بر رشد عمومی جنین در رحم، بلکه بر اندام‌های حیاتی مهم نظیر مغز در دوران جنینی تا نوجوانی اثرگذار بوده است.^{۳۳} مدت زمان قرار گرفتن در معرض هیپوکسی به عنوان یکی از عوامل مهم و اساسی در تعیین پیشرفت محدودیت رشد جنین (FGR) مطرح است. برای این که هیپوکسی بارداری سبب FGR و متعاقب آن کاهش وزن و طول بدن شود؛ به حداقل مدت زمان هیپوکسی به مدت ۳ روز نیاز است و مدت زمان کمتر از ۳ روز هیپوکسی سبب کاهش معنی‌دار FGR زاده‌های موش صحرایی نمی‌گردد.^{۳۴} وزن بدن جنین‌هایی که مادران آنها از روز ۱۵ تا روز ۲۱ بارداری در معرض هیپوکسی قرار داشتند؛ در هر دو جنس نر و ماده جنین‌ها کاهش نشان داده است.^{۳۵} این مطالعات، نتایج مطالعه حاضر را تایید می‌کند.

اسیدهای چرب غیراشباع امگا۳ نقش مهمی بر تکامل اندام‌ها دارند.^{۳۵} استفاده از روغن ماهی همراه با هیپوکسی در مطالعه حاضر، توانست کاهش وزن و طول جنین‌ها را تا حدودی جبران کند. مکانیسم جبران کننده به دنبال کاهش اکسیژن طی هیپوکسی بارداری، افزایش فعالیت میتوکندری است که منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود.^{۳۳} کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها و افزایش استرس اکسیداتیو منجر به اختلال در عملکرد اسیدهای چرب غیراشباع ضروری به ویژه دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) می‌شود که احتمالاً یک عامل کلیدی در پیشرفت پره‌اکلامپسی است. اعتقاد بر این است که تجویز مکمل حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها و اسیدهای چرب ضروری (DHA و EPA) در دوران بارداری، ممکن است

mechanisms mediating vulnerability and resilience to psychiatric disorders. *Neurosci Biobehav Rev.* 2011 Jun; 35(7): 1544-51. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2010.12.016

3. Getahun D, Rhoads GG, Demissie K, Lu SE, Quinn VP, Fasset

- MJ, et al. In utero exposure to ischemic-hypoxic conditions and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Pediatrics*. 2013 Jan; 131(1): e53-61. DOI: 10.1542/peds.2012-1298
4. Golan H, Huleihel M. The effect of prenatal hypoxia on brain development: short- and long-term consequences demonstrated in rodent models. *Dev Sci*. 2006 Jul; 9(4): 338-49. DOI: 10.1111/j.1467-7687.2006.00498.x
5. Hu XQ, Zhang L. Hypoxia and Mitochondrial Dysfunction in Pregnancy Complications. *Antioxidants (Basel)*. 2021 Mar; 10(3): 405. DOI: 10.3390/antiox10030405
6. Corcoran A, O'Connor JJ. Hypoxia-inducible factor signalling mechanisms in the central nervous system. *Acta Physiol (Oxf)*. 2013 Aug; 208(4): 298-310. DOI: 10.1111/apha.12117
7. Fuhrmann DC, Brüne B. Mitochondrial composition and function under the control of hypoxia. *Redox Biol*. 2017 Aug; 12: 208-15. DOI: 10.1016/j.redox.2017.02.012
8. Silvestro S, Calcaterra V, Pelizzo G, Bramanti P, Mazzon E. Prenatal Hypoxia and Placental Oxidative Stress: Insights from Animal Models to Clinical Evidences. *Antioxidants (Basel)*. 2020 May; 9(5): 414. DOI: 10.3390/antiox9050414
9. Perrone S, Laschi E, Buonocore G. Biomarkers of oxidative stress in the fetus and in the newborn. *Free Radic Biol Med*. 2019 Oct; 142: 23-31. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.03.034
10. Thakor AS, Herrera EA, Serón-Ferré M, Giussani DA. Melatonin and vitamin C increase umbilical blood flow via nitric oxide-dependent mechanisms. *J Pineal Res*. 2010 Nov; 49(4): 399-406. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2010.00813.x
11. Joshi KS. Docosahexaenoic acid content is significantly higher in ghrita prepared by traditional Ayurvedic method. *J Ayurveda Integr Med*. 2014 Apr; 5(2): 85-88. DOI: 10.4103/0975-9476.131730
12. Iraz M, Erdogan H, Ozyurt B, Ozugurlu F, Ozcocmen S, Fadillioglu E. Brief communication: omega-3 essential fatty acid supplementation and erythrocyte oxidant/antioxidant status in rats. *Ann Clin Lab Sci*. 2005; 35(2): 169-73.
13. Jang EA, Longo LD, Goyal R. Antenatal maternal hypoxia: criterion for fetal growth restriction in rodents. *Front Physiol*. 2015 Jun; 6: 176. DOI: 10.3389/fphys.2015.00176
14. Albert BB, Vickers MH, Gray C, Reynolds CM, Segovia SA, Derraik JGB, 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 Jul; 7(1): 5595. DOI: 10.1038/s41598-017-05793-0
15. Nalivaeva NN, Fisk L, Kochkina EG, Plesneva SA, Zhuravin IA, Babusikova E, et al. Effect of hypoxia/ischemia and hypoxic preconditioning/reperfusion on expression of some amyloid-degrading enzymes. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 Dec; 1035: 21-33. DOI: 10.1196/annals.1332.002
16. Bourque SL, Dolinsky VW, Dyck JR, Davidge ST. Maternal resveratrol treatment during pregnancy improves adverse fetal outcomes in a rat model of severe hypoxia. *Placenta*. 2012 May; 33(5): 449-52. DOI: 10.1016/j.placenta.2012.01.012
17. Rueda-Clausen CF, Stanley JL, Thambiraj DF, Poudel R, Davidge ST, Baker PN. Effect of prenatal hypoxia in transgenic mouse models of preeclampsia and fetal growth restriction. *Reprod Sci*. 2014 Apr; 21(4): 492-502. DOI: 10.1177/1933719113503401
18. da Silva TFG, de Bem GF, da Costa CA, Santos IB, Soares RA, Ognibene DT, et al. Prenatal hypoxia predisposes vascular functional and structural changes associated with oxidative stress damage and depressive behavior in adult offspring male rats. *Physiol Behav*. 2021 Mar; 230: 113293. DOI: 10.1016/j.physbeh.2020.113293
19. Bhattacharya R, Singh P, John JJ, Gujar NL. Oxidative damage mediated iNOS and UCP-2 upregulation in rat brain after sub-acute cyanide exposure: dose and time-dependent effects. *Drug Chem Toxicol*. 2019 Nov; 42(6): 577-84. DOI: 10.1080/01480545.2018.1451876
20. Sab IM, Ferraz MM, Amaral TA, Resende AC, Ferraz MR, Matsuura C, et al. Prenatal hypoxia, habituation memory and oxidative stress. *Pharmacol Biochem Behav*. 2013 Jun; 107: 24-28. DOI: 10.1016/j.pbb.2013.04.004
21. Sales F, Peralta OA, Narbona E, McCoard S, De Los Reyes M, González-Bulnes A, et al. Hypoxia and Oxidative Stress Are Associated with Reduced Fetal Growth in Twin and Undernourished Sheep Pregnancies. *Animals (Basel)*. 2018 Nov; 8(11): 217. DOI: 10.3390/ani8110217
22. Gagnon R. Placental insufficiency and its consequences. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003 Sep; 110 Suppl 1: S99-107. DOI: 10.1016/s0301-2115(03)00179-9
23. Kobayashi Y, Oguro A, Imaoka S. Feedback of hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-1alpha) transcriptional activity via redox factor-1 (Ref-1) induction by reactive oxygen species (ROS). *Free Radic Res*. 2021 Feb; 55(2): 154-64. DOI: 10.1080/10715762.2020.1870685
24. Ornoy A, Livshitz A, Ergaz Z, Stodgell CJ, Miller RK. Hyperglycemia, hypoxia and their combination exert oxidative stress and changes in antioxidant gene expression: studies on cultured rat embryos. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*. 2011 Jun; 92(3): 231-39. DOI: 10.1002/dbdr.20313
25. Phillips TJ, Scott H, Menassa DA, Bignell AL, Sood A, Morton JS, et al. Treating the placenta to prevent adverse effects of gestational hypoxia on fetal brain development. *Sci Rep*. 2017 Aug; 7(1): 9079. DOI: 10.1038/s41598-017-06300-1
26. Aljunaidy MM, Morton JS, Kirschenman R, Phillips T, Case CP, Cooke CM, et al. Maternal treatment with a placental-targeted antioxidant (MitoQ) impacts offspring cardiovascular function in a rat model of prenatal hypoxia. *Pharmacol Res*. 2018 Aug; 134: 332-42. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.05.006
27. Shang EH, Wu RS. Aquatic hypoxia is a teratogen and affects fish embryonic development. *Environ Sci Technol*. 2004 Sep; 38(18): 4763-67. DOI: 10.1021/es0496423
28. Nechaeva M, Alekseeva T, Dobretsov M, Kubasov I. Chicken embryos can maintain heart rate during hypoxia on day 4 of incubation. *J Comp Physiol B*. 2020 May; 190(3): 361-70. DOI: 10.1007/s00360-020-01274-5
29. Ritchie HE, Oakes D, Farrell E, Ababneh D, Howe A. Fetal hypoxia and hyperglycemia in the formation of phenytoin-induced cleft lip and maxillary hypoplasia. *Epilepsia Open*. 2019 Jul; 4(3): 443-51. DOI: 10.1002/epi4.12352
30. Lim HJ, Han J, Woo DH, Kim SE, Kim SK, Kang HG, et al. Biochemical and morphological effects of hypoxic environment on human embryonic stem cells in long-term culture and differentiating embryoid bodies. *Mol Cells*. 2011 Feb; 31(2): 123-32. DOI: 10.1007/s10059-011-0016-8
31. Qin X, Cheng J, Zhong Y, Mahgoub OK, Akter F, Fan Y, et al. Mechanism and Treatment Related to Oxidative Stress in Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *Front Mol Neurosci*. 2019 Apr; 12: 88. DOI: 10.3389/fnmol.2019.00088
32. Karwasik-Kajszczarek K, Chmiel-Perzyńska I, Robak JM, Billewicz-Kraczkowska A, Pedrycz A, Smoleń A, et al. Impact of experimental diabetes and chronic hypoxia on rat fetal body weight. *Ginekol Pol*. 2018; 89(1): 20-24. DOI: 10.5603/GP.a2018.0004
33. Weis SN, Pettenuzzo LF, Krolow R, Valentim LM, Mota CS, Dalmaz C, et al. Neonatal hypoxia-ischemia induces sex-related changes in rat brain mitochondria. *Mitochondrion*. 2012 Mar;

- 12(2): 271-79. DOI: 10.1016/j.mito.2011.10.002
34. Aliheydari M, Ghotbeddin Z, Khazaeil K, Tabandeh M R. Effect of fish oil treatment during chronic hypoxia in pregnancy on memory impairment, brain morphometry changes and oxidative stress in adult male rat offspring. *Feyz*. 2020; 24(2): 170-80.
35. Coletta JM, Bell SJ, Roman AS. Omega-3 Fatty acids and pregnancy. *Rev Obstet Gynecol*. 2010; 3(4): 163-71.
36. Mehendale S, Kilari A, Dangat K, Taralekar V, Mahadik S, Joshi S. Fatty acids, antioxidants, and oxidative stress in pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet*. 2008 Mar; 100(3): 234-38. DOI: 10.1016/j.ijgo.2007.08.011
37. Jump DB. Fatty acid regulation of gene transcription. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2004; 41(1): 41-78. DOI: 10.1080/10408360490278341
38. Lin Z, Niu Y, Jiang Y, Chen B, Peng L, Mi T, et al. Protective effects of dietary fish-oil supplementation on skin inflammatory and oxidative stress biomarkers induced by fine particulate air pollution: a pilot randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Dermatol*. 2021 Feb; 184(2): 261-69. DOI: 10.1111/bjd.19156
39. Clementi ME, Lazzarino G, Sampaiolese B, Brancato A, Tringali G. DHA protects PC12 cells against oxidative stress and apoptotic signals through the activation of the NFE2L2/HO-1 axis. *Int J Mol Med*. 2019 Jun; 43(6): 2523-31. DOI: 10.3892/ijmm.2019.4170