اثر استرس مهارنشده و مصرف مورفین بر تکوین طناب نخاعی در جنین موش بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار

زهره ممتاز[۱]؛ الهه صادقیان[۱]؛ **مهرانگیز صدوقی**[۱]؛ **مهناز آذرنیا**[۲]؛ **مهسا نوروززاده**[۱]؛ **حسین بهادران**[۳]؛ **هدایت صحرایی**[۴]*

چکیده

زمینه: تحقیقات نشان می‌دهد که مورفین ممکن است با تحریک رها شدن کورتیکوسترون باعث بروز تأخیر در تکوین جنین شود. در این مطالعه، تأثیر استرس و مصرف مورفین بر تکوین طناب نخاعی در جنین موش صحرایی بررسی شد.

روش‌ها: از موش‌های نژاد ویستار با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. بعد از بارداری، حیوانات به چهار گروه (n=۶ در هر گروه) کنترل، مورفین (۰/۰۵ میلی‌گرم محلول در آب)، گروه استرس (شوک الکتریکی) و گروه آزمایش (مورفین و استرس) تقسیم شدند. در روز چهاردهم بارداری، موش‌ها جراحی شدند. سپس جنین‌ها خارج گردیدند و پس از شستشو، توزین و اندازه‌گیری طول سری-دمی، آن‌ها با کولیس در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند. پس از طی مراحل پردازش، برش‌گیری و رنگ‌آمیزی به روش H&E، نمونه‌های مطالعاتی تهیه و با استفاده از نرم‌افزار MOTIC و میکروسکوپ نوری، تغییرات سطح مقطع نخاع مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 9.01 آنالیز شد.

یافته‌ها: وزن جنین‌ها در گروه استرس نسبت به کنترل، افزایش اما در گروه مورفین و استرس کاهش یافت. این یافته در مورد طول جنین‌ها هم صادق بود. همچنین سطح مقطع نخاع در گروه مادران استرس‌دیده، افزایش ولی در گروه استرس+ مورفین کاهش یافته بود.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد که مورفین و استرس، تأثیر خود را بر تکوین جنین از مسیرهای غیرمتشابه اعمال می‌کنند و بنابراین نمی‌توان همه اثرات دیده‌شده از مورفین در جنین‌ها را به تحریک رها شدن کورتیکوسترون در موش باردار نسبت داد.

کلیدواژه‌ها: استرس، مورفین، نخاع، جنین، موش

«دریافت: ۱۳۹۰/۳/۲ پذیرش: ۱۳۹۰/۹/۸»

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه ازاد اسلامی، واحد تهران شمال

۲. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم

۳. گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

۴. مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

* **عهده‌دار مکاتبات:** تهران، نیاوران، سه راه اراج، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، صندوق پستی ۶۵۵۸-۱۹۳۹۵، تلفاکس: ۰۲۱-۲۶۱۲۷۲۵۷

E-mail: h.sahraei@bmsu.ac.ir

مقدمه

فرآیندهای عصبی که در آن‌ها نخاع شوکی نقش دارد بسیار گسترده بوده و طیف وسیعی از اعمال حسی و حرکتی را در بر می‌گیرد. این بخش مهم از دستگاه عصبی به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین ورودی‌های حسی به مغز، همچنین در پردازش و جمع‌بندی اطلاعات ورودی نیز دخالت داشته و در نهایت می‌تواند به‌عنوان یک مرکز انعکاسی، برخی رفلکس‌های ساده مانند رفلکس جمع شدن اندام‌ها را سازماندهی کند (۱).

ساختار و سازمان‌بندی ویژه نخاع شوکی، این امکان را برای موجود زنده به‌وجود می‌آورد که ورودی‌های حسی را با خروجی‌های حرکتی ترکیب کرده و در نهایت یک هماهنگی کامل را در پاسخ به محرک‌های بیرونی به نمایش بگذارد (۲). به‌همین دلیل، عدم تکامل صحیح

نخاع شوکی می‌تواند به نقایص حسی یا حرکتی و یا هردو از یک طرف و نیز عدم پاسخ‌گویی مناسب به محرک‌ها از طرف دیگر منجر شود (۲). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تأخیر در تکامل نخاع به بروز مشکلاتی مانند اسپینا بیفیدا (۳) می‌انجامد که می‌تواند در نهایت، نقایص حسی و حرکتی را در فرد مبتلا ایجاد کند.

تریاک (اوپیوم) یکی از قدیمی‌ترین داروهای شناخته‌شده می‌باشد که از دیرباز به‌عنوان داروی مسکن و نیز ضدسرفه و ضداسهال مورد استفاده بشر بوده است (۵). مهم‌ترین آلکالوئید موجود در تریاک، مورفین است که به همراه کدوئین، اثرات ضددردی و ضداسهال آن را باعث می‌شود (۵). این آلکالوئیدها که امروزه به‌عنوان دارو از تریاک جداسازی شده و مورد استفاده قرار می‌گیرند، اثرات خود را در بدن با تحریک گیرنده‌های اوپیوئیدی شناخته شده شامل سه نوع اصلی مو، کاپا و دلتا به انجام می‌رسانند (۶). فعال شدن این گیرنده‌ها منجر به کاهش غلظت درون سلولی آدنوزین منوفسفات حلقوی (cAMP)، افزایش خروج یون پتاسیم و کاهش ورود یون کلسیم به سلول می‌شود (۶). یکی از اصلی‌ترین اثرات سوء مصرف مورفین و ترکیبات مشابه آن بروز وابستگی دارویی است که می‌تواند اثرات شدید و حتی غیرقابل برگشتی را در فرد مصرف‌کننده ایجاد کند (۷). علاوه بر این، مصرف داروهای اعتیادآور می‌تواند به بروز ناهنجاری در فرزندان زنان وابسته به این داروها منجر شود. مطالعات متعدد در خانم‌هایی که در دوره بارداری، متادون مصرف می‌کرده‌اند نشان از بروز ناهنجاری‌های رفتاری مانند بیش‌فعالی، کاهش توان ذهنی و کاهش توانایی تمایز حرکتی در این فرزندان است (۱۱-۹). مطالعات حیوانی نیز از بروز عوارض متعدد در جنین موش‌های کوچک و بزرگ آزمایشگاهی به دنبال مصرف مورفین دارد (۱۶-۱۲). از طرف دیگر، پژوهش‌های پیشین نشان‌دهنده افزایش میزان کورتیکوسترون و یا کورتیزول پلاسما در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده و میش‌های باردار، پس از تجویز خوراکی و نیز تزریق زیر جلدی مورفین می‌باشد (۱۹-۱۷). در تحقیقات قبلی، یکی از دلایل وجود نابهنجاری در تکامل جنین موش‌های دریافت‌کننده مورفین خوراکی، تأثیر آن بر افزایش کورتیکوسترون پلاسما عنوان شده است (۱۷). از سوی دیگر، تحقیقات گسترده‌ای از بروز نابهنجاری در تکامل جنین در مادران باردار استرس‌دیده در مدل‌های حیوانی (۲۰) و نیز انسان (۲۱) حکایت دارد. بر اساس این تحقیقات، هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی (در انسان کورتیزول و در جوندگان کورتیکوسترون) ترشح‌شده در اثر استرس بر جنین اثر کرده و موجب کاهش تکامل بخش‌های مختلف دستگاه عصبی می‌شود (۲۰ و ۲۱). با این وجود، پرسش اصلی این است که آیا مسیر اعمال اثرات مورفین (داروهای اعتیادآور به‌طور کلی) و استرس در القاء اثرات تأخیری در تکامل جنین یکسان است؟ در صورت مثبت بودن پاسخ این سؤال، آیا این امر در نخاع شوکی هم به وقوع می‌پیوندد؟ این تحقیق برای بررسی برهم‌کنش احتمالی اثر مورفین و سیستم استرس بر تکامل طناب نخاعی در جنین موش بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار طراحی و انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۲۴ سر موش بزرگ آزمایشگاهی ماده نژاد ویستار با میانگین ۲۰±۲۵۰ گرم استفاده شد. موش‌ها در قفس‌های ۲ تایی و در درجه حرارت محیط (۲۴ درجه سانتیگراد) با دوره نوری طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگه‌داری شدند. در طول دوره آزمایش، آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار گرفت. در این مطالعه، مورفین سولفات تهیه‌شده از شرکت تماد ایران به‌صورت خوراکی استفاده گردید. موش‌های ماده به نسبت ۱/۲ با حیوانات نر در یک قفس قرار گرفته و ۲۴ ساعت بعد، پس از حصول اطمینان از بارداری (با دیدن توپی واژنی و یا تأیید وجود اسپرم در واژینال اسمیر) روز صفر بارداری تعیین شد. سپس

موش‌ها به چهار گروه کنترل، مورفین، استرس و استرس به همراه مورفین تقسیم شدند (هر گروه شامل ۶ سر موش). گروه کنترل از آب آشامیدنی شهر استفاده می‌کردند و هیچ‌گونه استرسی دریافت نمی‌کردند. این گروه هر روز به‌مدت ۶۰ دقیقه به محل آزمایش منتقل شده و در دستگاه استرس قرار گرفته و بدون القاء استرس به محل نگه‌داری خود بازگشت داده می‌شدند. گروه دریافت‌کننده مورفین خوراکی از محلول آب آشامیدنی شهر و مورفین (۰/۰۵mg/ml) در هر میلی‌لیتر آب به‌صورت روزانه) استفاده می‌کردند. گروه استرس طبق یک برنامه کاملاً تصادفی، هر روز به اتاق آزمایش منتقل شده و به‌مدت یک ساعت در دستگاه مخصوص (Communication Box) تحت استرس قرار می‌گرفتند. این دستگاه دارای ۹ قسمت (۱۶×۱۶×۳۰ سانتی‌متر- طول× عرض×ارتفاع) بود. کف این قسمت‌ها از سیم‌های استیل زنگ‌نزن به قطر ۳ میلی‌متر بود که به دستگاه الکتروشوکی که توسط رایانه کنترل می‌شد مرتبط بودند. شدت و مدت القاء الکتروشوک و نیز زمان القاءآن توسط کاربر تعیین می‌شد. در این تحقیق، دستگاه روی ولتاژ ۴۵ میلی‌ولت و زمان ده ثانیه تنظیم بود به‌طوری‌که در هر دقیقه، ده ثانیه اول، استرس (شوک الکتریکی) وارد می‌شد و پنجاه ثانیه باقیمانده، استرسی وارد نمی‌شد. این کار به‌مدت یک ساعت ادامه می‌یافت (۲۲). گروه چهارم، هر روز شوک الکتریکی به‌روش گفته‌شده فوق را دریافت می‌کردند و در آب آشامیدنی آن‌ها نیز مورفین (۰/۰۵mg/ml) در هر میلی‌لیتر آب به‌صورت روزانه) اضافه می‌شد. میزان آب دریافتی برای هر سر موش، ۱۰ میلی‌لیتر به ازاء هر ۱۰۰ گرم وزن بدن حیوان بود اما اگر حیوانی آب بیشتری را مصرف می‌کرد، این مقدار در اختیار حیوان قرار می‌گرفت. پس از گذشت ۱۴ روز از زمان شروع حاملگی (۲)، موش ها با کلروفرم کشته شده و جنین‌ها به همراه رحم از بدن موش‌های مادر خارج گردید و وزن آن‌ها با ترازوی دیجیتال (سارتوریوس- آلمان) و طول سری-دمی آن‌ها با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۵ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. سپس جنین‌ها به محلول فرمالین ۱۰ درصد برای مدت ۲ ماه منتقل گردیدند. پس از این مرحله، جنین‌ها در دستگاه پردازش بافتی قرار گرفته و آماده قالب‌گیری شدند. برای قالب‌گیری، جنین‌ها از سمت قدامی خود در انتهای بلوک‌ها و داخل پارافین مذاب قرار گرفتند. سپس مراحل برش‌گیری از بلوک‌ها توسط میکروتوم (ساخت FITS آلمان) انجام شد و برش‌های عرضی به ضخامت ۵ میکرومتر به‌صورت سریال تهیه گردید. این برش‌ها پس از عبور از دستگاه بن‌ماری روی لام‌ها قرار گرفته و آماده رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) شدند (۲۳). پس از رنگ‌آمیزی و آماده‌سازی، لام‌ها از نظر سطح مقطع نخاع، مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. برای این منظور، با استفاده از نرم‌افزار MOTIC، ابتدا از هر برش، عکس تهیه شده و سپس با توجه به بزرگ‌نمایی موردنظر، سطح هر بخش از نخاع به میکرومتر مربع محاسبه می‌شد. البته در این تحقیق بنا بر شمارش سلول‌ها در هر بخش نیز بود که متأسفانه به‌دلیل مشکلات تکنیکی، این کار انجام نشد. داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 9.01 آنالیز گردید. نتایج به‌صورت میانگین±انحراف‌معیار بیان شدند. اطلاعات با استفاده از آزمون آنالیز-واریانس دوطرفه و به‌دنبال آن تست توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. $P<۰/۰۵$ به‌عنوان مرز معنادار بودن در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

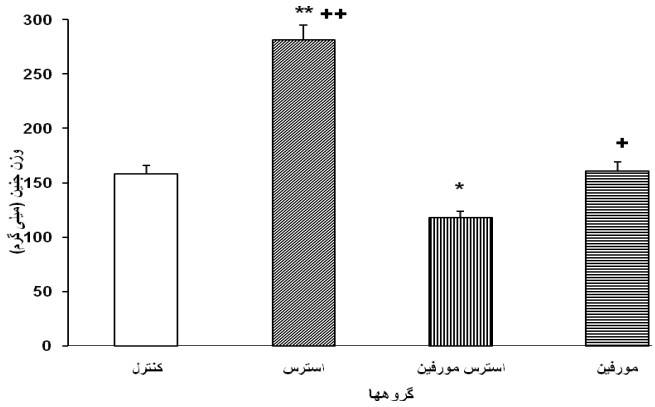
بررسی تغییرات وزن جنین موش‌ها در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروه مادران استرس‌دیده نسبت به گروه کنترل، جنین‌ها افزایش وزن داشتند. این افزایش وزن از نظر آماری معنادار بود. در گروه دریافت‌کننده مورفین، تغییر وزنی دیده نشد اما در گروهی که هم مورفین دریافت کردند و هم با استرس مواجه شدند، کاهش وزن نسبت به گروه کنترل دیده شد (شکل ۱). آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد وزن جنین در گروه مواجهه با استرس،

نسبت به دو گروه آزمایشی دیگر، افزایش معنادار داشته است.

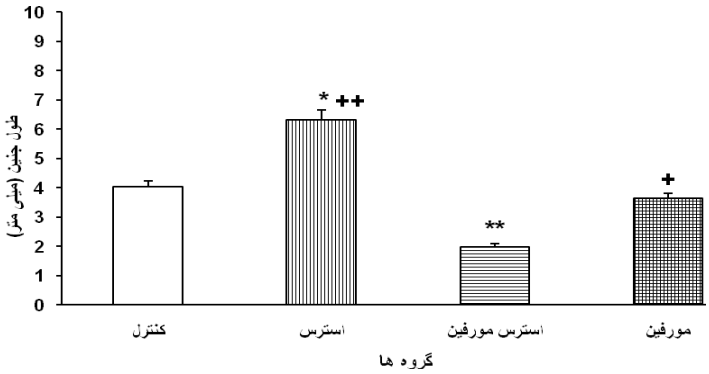
[within-group comparison: morphine effect: F(7,43)= 0.23, P>0.5, stress effect: F(1, 43)= 5.21, P<0.001, stress×morphine: F(7, 43)= 4.308, P<0.01].

بررسی تغییرات طول جنین موش‌ها در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروه مادران استرس‌دیده نسبت به گروه کنترل، جنینها افزایش طول داشتند که از نظر آماری معنادار بود. در گروه دریافت‌کننده مورفین، تغییر طولی دیده نشد اما در گروهی که هم مورفین دریافت کردند و هم با استرس مواجه شدند، کاهش طول نسبت به گروه کنترل دیده شد (شکل ۲). آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که گروه مواجهه با استرس نسبت به دو گروه آزمایشی دیگر، افزایش معناداری در طول جنین‌ها دارد.

[within-group comparison: morphine effect: F(7,43)= 1.06, P>0.5, stress effect: F(1, 43)= 7.324, P<0.001, stress × morphine: F(7, 43)= 3.76, P<0.05].



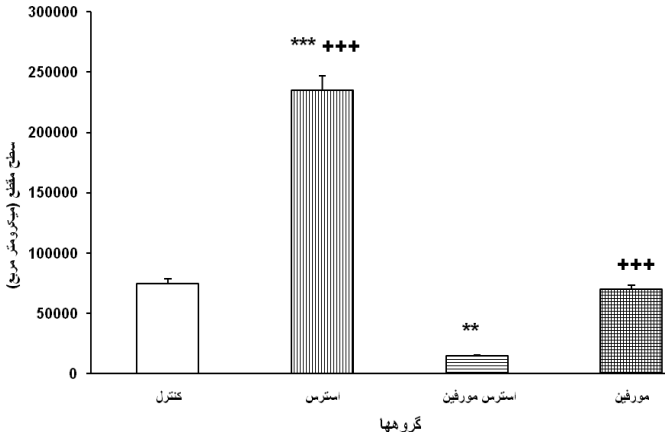
شکل ۱– نمودار تغییرات وزن جنین‌های ۱۴ روزه موش بزرگ آزمایشگاهی در گروه‌های آزمایشی و کنترل به میلی‌گرم. همچنانکه در نمودار مشخص است، وزن جنین‌ها در گروه دریافت‌کننده استرس و مورفین، کاهش ولی در گروه دریافت‌کننده استرس، افزایش یافته بود.
*P<۰/۰۵ و **P<۰/۰۱ تفاوت نسبت به گروه کنترل و +P<۰/۰۵ و ++P<۰/۰۱ تفاوت نسبت به گروه استرس+مورفین می‌باشد.



شکل ۲– نمودار تغییرات طول جنین‌های ۱۴ روزه موش بزرگ آزمایشگاهی در گروه‌های آزمایشی و کنترل به میلی‌متر. همچنانکه در نمودار مشخص است، طول جنینها در گروه دریافت‌کننده استرس+مورفین و مورفین، کاهش ولی در گروه دریافت‌کننده استرس، افزایش یافته بود.
*P<۰/۰۵ و **P<۰/۰۱ تفاوت نسبت به گروه کنترل و +P<۰/۰۵ و ++P<۰/۰۱ تفاوت نسبت به گروه استرس+مورفین می‌باشد.

بررسی تغییرات سطح مقطع نخاع جنین موش‌ها در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروه مادران استرس‌دیده نسبت به گروه کنترل، افزایش سطح مقطع نخاع دیده شد که از نظر آماری معنادار بود. در گروه دریافت‌کننده مورفین، تغییری در سطح مقطع نخاع نسبت به گروه کنترل دیده نشد. اما در گروهی که هم مورفین دریافت کردند و هم با استرس مواجه شدند، کاهش سطح مقطع نخاع نسبت به گروه کنترل دیده شد (شکل ۳). آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که گروه مواجهه با استرس نسبت به دو گروه آزمایشی دیگر، افزایش معناداری در سطح مقطع نخاع دارد (شکل ۷-۴).

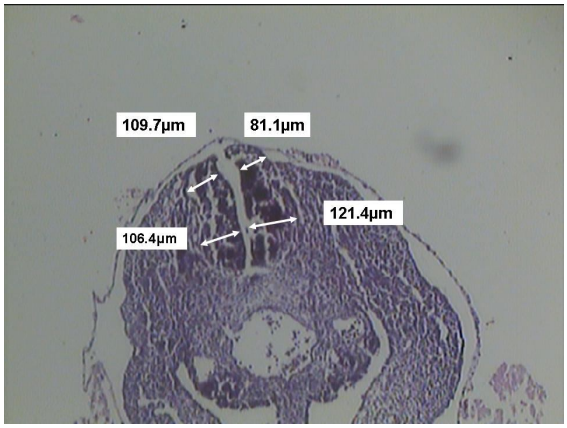
[within-group comparison: morphine effect: $F(7,67)= 1.27$, $P>0.5$, stress effect: $F(1, 67)= 12.31$, $P<0.001$, stress × morphine: $F(7, 67)= 11.209$, $P<0.001$].



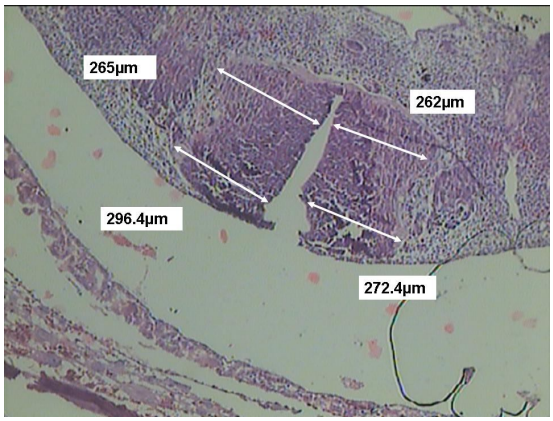
شکل ۳- نمودار تغییرات سطح مقطع نخاع جنین‌های ۱۴ روزه موش بزرگ آزمایشگاهی در گروه‌های آزمایشی و کنترل به میکرومتر مربع. همچنان‌که در نمودار مشخص است، سطح مقطع نخاع در گروه دریافت‌کننده استرس+مورفین، کاهش ولی در گروه دریافت‌کننده استرس، افزایش یافته بود.

**$P<۰/۰۱$ و ***$P<۰/۰۰۱$ تفاوت نسبت به گروه کنترل و +++$P<۰/۰۰۱$ تفاوت نسبت به گروه استرس+مورفین می‌باشد.

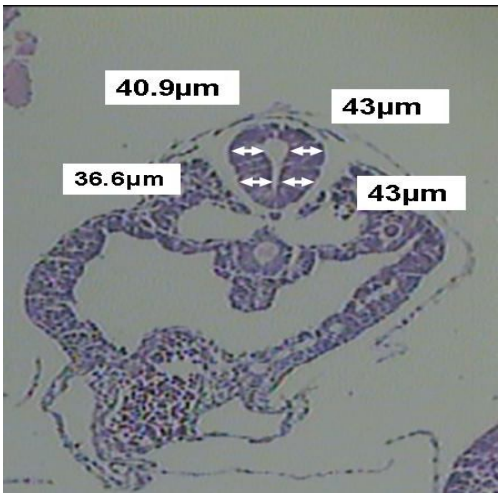
شکل ۴- برش مقطعی از نخاع شوکی یک جنین ۱۴ روزه مادران سالم. مجرای اپاندیم در حال شکل‌گیری و بخش‌های خاکستری و سفید نخاع هنوز قابل تشخیص نیستند. بزرگنمائی ۱۰۰ X.



شکل ۵- برش مقطعی از نخاع شوکی یک جنین مادران دریافت‌کننده مورفین. مجرای اپاندیم در حال شکل‌گیری و بخش‌های خاکستری و سفید نخاع هنوز قابل تشخیص نیستند. به تخریب بافتی در شکل توجه شود. بزگنمائی ۱۰۰ X.



شکل ۶- برش مقطعی از نخاع شوکی یک جنین مادران دریافت‌کننده استرس. مجرای اپاندیم در حال شکل‌گیری و بخش‌های خاکستری و سفید نخاع هنوز قابل تشخیص نیستند. رشد بیش از حد سطح مقطع نخاع و نیز تعداد سلول‌ها قابل توجه است. بزگنمائی ۱۰۰ X.



شکل ۷- برش مقطعی از نخاع شوکی یک جنین مادرانی که همزمان استرس و مورفین دریافت کرده‌اند. مجرای اپاندیم در حال شکل‌گیری و بخش‌های خاکستری و سفید نخاع هنوز قابل تشخیص نیستند. نوعی عقب‌ماندگی در رشد در بخش‌های مختلف دیده می‌شود. بزگنمائی ۱۰۰ X.

بحث

این تحقیق به‌منظور تعیین برهم‌کنش بین مورفین و استرس در تکوین دستگاه عصبی در جنین موش‌های بزرگ آزمایشگاهی انجام شد. اگر نتایج حاصل از اعمال استرس و مصرف مورفین، بیشتر از هریک از دو اثر مورفین و یا استرس به‌تنهایی باشد، می‌توان نظر داد که برهم‌کنش مثبت در اثر این دو متغیر مهم محیطی وجود دارد. بایستی در نظر داشت که متغیرهای محیطی مختلفی بر تکوین جنین اثر دارند که یا با اثر بر سلول‌های جنینی و یا با اثر بر سیستم‌های خونرسانی به جینین ممکن است اثر خود را القاء نمایند. تحقیقات جدید نشان‌دهنده آن است که داروهای اعتیادآور و به‌خصوص در تحقیق ما مورفین، به‌عنوان یک فاکتور مهم محیطی، تأثیر شگرفی بر تکوین دستگاه عصبی در جنین دارند که در تحقیقات قبلی بدان‌ها اشاره شده است (برای مثال رجوع شود به ۱۷-۱۲). نتایج ما حاکی از آن است که تجویز مورفین، رشد جنین را به تأخیر نمی‌اندازد و این امر در رشد طبیعی کمی (طول و وزن بدن) و نیز در رشد نخاع شوکی (سطح مقطع نخاع) دیده می‌شود. تحقیق ما همچنین نشان داد که استرس باعث افزایش شدید رشد کمی جنین و نیز افزایش سطح مقطع نخاع شوکی می‌گردد. در حالی‌که اثر توأم استرس و مورفین باعث تأخیری شدید در رشد همه ابعاد رشد جنین که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت می‌گردد.

مطالعه در مورد اثر عوامل محیطی بر رشد و تکوین جنین برای چندین قرن ادامه داشته است و محققان به اثر تأخیری عوامل محیطی مختلف در این زمینه پی برده‌اند. در تحقیقات قبلی نیز اثرات مخرب مورفین به‌عنوان یک عامل محیطی مهم بر تکوین جنین در موش‌های بزرگ و کوچک آزمایشگاهی اثبات شده است (۱۷-۱۲). از سوی دیگر، تأثیر استرس بر تکوین دستگاه عصبی در نمونه‌های انسانی و نیز در حیوانات بررسی شده است (۲۸ و ۲۹). اما با توجه به این‌که مصرف داروهای اعتیادآور و استرس در موارد انسانی به‌صورت توأم اتفاق می‌افتد، در تحقیق حاضر این دو فاکتور مهم همراه با هم در حیوانات مورد استفاده قرار گرفت تا اولاً برهم‌کنش احتمالی این دو فاکتور مورد بررسی قرار گیرد و ثانیاً این احتمال که مورفین با تحریک و یا مهار سیستم استرسی، باعث بروز اثرات خود در جنین می‌شود نیز بررسی شود. تحقیق ما نشان داد که مورفین خوراکی، وزن و طول جنین موش‌ها را کاهش نداده است که این یافته با اکثر تحقیقات قبلی هماهنگ نیست (۱۷-۱۲). دلایل عدم اثربخشی مورفین در کاهش رشد کمی جنین مشخص نیست و به‌همین دلیل، این تحقیق ما با تحقیقات قبلی همخوانی ندارد. محققان نشان داده‌اند که افزایش ترشح هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی در خون مادر به‌دلیل عوامل استرس‌زا با اثر بر گیرنده‌های خود که به تعداد بسیار زیاد در نواحی مختلف دستگاه عصبی و جفت وجود دارند باعث کاهش خونرسانی به جنین شده (۲۵) و کاهش رشد آن را سبب می‌شوند. برخلاف گفته‌های فوق، تحقیق ما نشان داد که جنین مادرانی که فقط استرس می‌دیدند از رشد بسیار بیشتری نسبت به گروه کنترل برخوردار شدند. تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که استرس می‌تواند با القاء آنورکسی، باعث کاهش وزن حیوان استرس‌دیده شود. همچنین با توجه به گفته‌های فوق در مورد اثر کورتیکوسترون بر عروق جفتی و انقباض آن‌ها بایستی جنین‌ها کاهش رشد را از خود نشان می‌دادند. اما بایستی در نظر داشت که استرس در همه موارد باعث کاهش اشتها و آنورکسی نمی‌شود و مواردی که افزایش تغذیه و پرخوری را در اثر استرس گزارش کرده‌اند کم نیستند (۲۱). به همین دلیل ممکن است استرس در تحقیق ما باعث بروز پرخوری شده باشد. البته این یک نقص است که در این تحقیق، میزان غذای مصرفی حیوانات اندازه‌گیری نشده است. اما با توجه به این‌که امکان نگه‌داری حیوان ماده باردار به‌صورت انفرادی در قفس متابولیک وجود ندارد و حیوان به‌زودی تلف خواهد شد (تجربه شخصی)، در این تحقیق امکان اندازه‌گیری دقیق میزان غذای مصرفی در واقع وجود نداشت. هرچند که

نتایج ما در بخش میکروسکوپی نشان داد که استرس باعث بروز از هم گسیختگی در بافت‌های اطراف نخاع (و احتمالاً سایر مناطق بدن جنین) شده است و این افزایش وزن و طول جنین به دلیل رشد بهتر آن نمی‌تواند باشد، اما به هر تقدیر بایستی پذیرفت که استرس باعث افزایش کلی رشد کمی جنین شده است. هرچند این رشد می‌تواند کاملاً غیرطبیعی باشد. محققان قبلی نیز بر این نکته تأکید دارند که استرس در دوران بارداری، عامل بسیار مهمی در ایجاد عوارض جسمی و روانی در جنین‌ها و نوزادان مادرانی می‌شود که درحین بارداری دچار استرس شده‌اند (۲۱). تحقیقات موارد انسانی و حیوانی هم نشان دادند که جنین‌های مادران استرس‌دیده از نظر رشد قوای مغزی با تأخیر روبه‌رو بودند (۲۷) و همچنین این جنین‌ها در دوران بزرگسالی، عقب‌ماندگی ذهنی و غیرطبیعی بودن در رفتار را نشان دادند (۲۸). البته در تحقیق حاضر، تغییرات ناشی از مصرف مورفین یا استرس بر بافت جفتی بررسی نشد. اما در تحقیقات قبلی، تغییرات وسیعی در ساختمان بخش جنینی و بخش مادری جفت در اثر مصرف مورفین دیده شده (۲۵) که بیش از همه به‌نظر می‌رسد ناشی از افزایش کورتیکوسترون به‌دنبال مصرف مورفین است. در همین‌جا می‌توان پیشنهاد کرد که در تحقیقات بعدی، تغییرات ساختمان جفت به دنبال القای استرس نیز بررسی شود. این تغییرات می‌تواند به‌صورت سلولی –مولکولی، ژنتیکی، بافت شناسی و عملکردی مورد بررسی قرار گیرد.

در تحقیق ما گروه دریافت‌کننده مورفین و استرس، جنین‌های بسیار کوچک‌تر از سایر گروه‌ها داشتند که می‌تواند به دلیل تأثیر تجمعی مورفین و کورتیکوسترون در القای انقباض عروق به‌مقداری بیش از اثر هر کدام از آن‌ها به‌تنهایی باشد. البته باید در نظر داشت که استرس، علاوه بر مسیر کورتیکوسترون، مسیر سمپاتیک راهم فعال می‌کند (۲۹). بنابراین ممکن است که قسمتی از اثرات دیده‌شده در گروه استرس و گروه استرس+مورفین به دلیل فعال شدن سیستم سمپاتیک حیوان باشد. متأسفانه در تحقیق ما غلظت نور آدرنالین در خون مادر اندازه‌گیری نشد و این مسأله میتواند در تحقیقات آتی مدنظر باشد. در مورد تغییرات وزن جنین‌ها نیز روندی مشابه اندازه جنین‌ها مشاهده شد که توجیهات مشابهی را می‌توان در این مورد مدنظر داشت. اما نکته اصلی تحقیق ما عبارت بود از بررسی تغییرات تکامل نخاع جنین‌ها در مادرانی که به‌ترتیب با استرس، مورفین و یا با استرس+مورفین تیمار شده بودند. باید در نظر داشت که تکامل نخاع در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار، طبق تحقیقات قبلی از روز ۱۲ بارداری شروع و تا روز ۱۴ بارداری ادامه می‌یابد (۲). بنابراین سه روز ۱۲، ۱۳ و ۱۴ از نظر تکوین نخاع بسیار مهم هستند. اما به‌دلیل آن‌که ختم این تکامل از روز ۱۴ بارداری است، این روز از نظر تحقیقات ما اهمیت بیشتری داشت. در روز ۱۴ بارداری، تکوین جنینی بخش‌های خاکستری و سفید نخاع در لوله عصبی متمایز شده و این تمایز با تغییر قطر مجرای اپاندیم نیز همراه است (۲). مشخص شده که سلول‌های اپاندیمال در این روز، آرایش اصلی خود را به دست می‌آورند (۲). در تحقیق ما همان‌طور که از قبل قابل حدس زدن بود در گروه استرس، بخش‌های سفید و خاکستری نخاع قابل مشاهده نبودند. همچنین در گروه کنترل، سلول‌های اپاندیمال مشخص بوده و مجرای اپاندیم در حال پیدا کردن شکل اصلی خود بود اما بخش‌های سفید و خاکستری نخاع متمایز نشده بودند. این امر در گروه دریافت‌کننده مورفین نیز کمی دیده شد اما در گروه دریافت‌کننده استرس و استرس+مورفین، اصلاً قابل مشاهده نبود. از سوی دیگر، اندازه‌گیری ضخامت مجرای اپاندیم و دو بخش چپ و راست نخاع نیز نشان داد که گروه دریافت‌کننده مورفین و نیز گروه دریافت‌کننده استرس، دارای بخش‌های کمتر گسترش‌یافته و با ضخامت بسیار کمی بودند. درحالی‌که گروه کنترل دارای مجرای اپاندیم نسبتاً وسیع بودند که نشان‌دهنده مهاجرت سلول‌های اپاندیمال می‌باشد و در کنار آن

بخش‌های جانبی وسیعی بود. این بررسی‌ها ما را بـه ایـن نکته می‌رساند که تغییرات اندازه نخاع کـه بـا تغییـرات تکاملی آن همخوانی زیادی دارد، در گروه‌های آزمایشـی ما کاملاً به تأخیر افتاده است و این تأخیر تا بدان‌جاسـت که حتی همبستگی بافتی نخاع از بین رفته است و به‌جای آن توده‌ای از سلول‌های غیرقابل‌تشخیص، ایـن ناحیـه را فرا گرفته است. به همین دلیل در تحقیق حاضر، ما موفـق به اندازه‌گیری تعداد و نیز سایز سلول‌ها نشـدیم. بایسـتی در نظر داشت که نخاع به‌عنوان مهم‌ترین قسمت دسـتگاه عصبی در انتقال پیام‌های حسی و حرکتی، نقش مهمـی را در بقاء موجود زنده بازی می‌کند (۱). تخریب نخـاع بـه هر صورت پس از تولد، منجر به فلج شدن نـواحی زیـر تخریب می‌گردد که این امر بـه از دسـت رفـتن حـس و حرکت این نواحی می‌انجامد (۲). از سوی دیگر، تکـوین غیرطبیعی نخاع نیز می‌تواند منجر بـه حـس یـا حرکـت غیرطبیعـی در موجـود زنـده شـود. بـه ایـن معنـی کـه سلول‌های تشکیل‌دهنده نخاع، پیوندهای لازم بـرای القـاء حس یا حرکت صحیح را ایجاد نمی‌کنند. به‌همـین دلیـل هر عاملی که بر این پیونـدها مـؤثر باشـد مـی‌توانـد بـر عملکرد نخاع و عملکرد فرد اثر بگذارد. بـه گفتـه دیگـر می‌توان انتظار داشت که اگر این جنین‌ها متولد می‌شـدند احتمالاً حس درد و لامسـه و سـایر حـس‌هـای پیکـری غیرطبیعی داشته و نیز حرکات غیرطبیعـی را از خـود بـه نمایش می‌گذاشتند. ما در اینجا پیشنهاد مـی‌کنـیم کـه در یک تحقیق جداگانه، اجازه دهند تا جنین‌های این مـادران به‌دنیا آمده و پس از تولد و رشد کـافی آن‌هـا را از نظـر پاسخ‌گویی به تحریکـات مختلـف حسـی و نیـز از نظـر حرکت، مورد آزمایش و بررسی قرار دهند که آن تحقیـق می‌تواند تکمیل‌کننده نتایج به‌دست‌آمده در مطالعـات مـا باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طورخلاصه تحقیق حاضر نشان داد که تفاوت‌هـای عمده‌ای بین عملکرد مورفین و اسـترس در القـاء تـأخیر تکوین نخاع جنین در موش بـزرگ آزمایشـگاهی وجـود دارد. همچنین این تفاوت‌ها در رشد کمی (طول و اندازه جنین) نیز نشان داده شد. این نتایج همچنین بیان می‌کننـد کـه تجـویز همزمـان مـورفین و القـاء اسـترس، اثـرات شدیدتری را نسبت به هر یـک از دو فـاکتور بـه‌تنهـایی ایجاد می‌کند. بنابراین خطر وجود هر دوی این عوامل در بروز ناهنجاری در تکوین جنـین و بـه‌خصـوص نخـاع، بسیار بیشتر از هریک از آن‌ها به‌تنهایی است.

تشکر و قدردانی

این کار با مساعدت مرکز تحقیقـات علـوم اعصـاب دانشگاه علـوم پزشـکی بقیـه الله (عـج) انجـام گرفـت. بدین‌وسیله از زحمات این عزیزان قدردانی می‌شود.

References

1. Grant G, Robertson BR. Primary afferent projections to the spinal cord. In: Paxinos G. The rat nervous system. 1st ed. Academic Press. 1995; 111-9.
2. Grant G, Koerber HR. Spinal cord cytoarchitecture. In: Paxinos G. The rat nervous system. 1st ed. Academic Press. 1995; 121-8.
3. Raye JR, Dubin JW, Blechner JN. Alteration in fetal metabolism subsequent to maternal morphine administration. Am J Obsst Gynecology. 1980; 137(4): 505-8.
4. Benyhe S. Morphine: new aspects in the study of an ancient compound. Life Sci. 1994; 55(13): 969-79.
5. Minami M, Satoh M. Molecular biology of the opioid receptors: structures, functions and distributions. Neurosci Res. 1995;23(2):121-45.
6. Ray SB, Wadhwa S. Mu opioid receptors in developing human spinal cord. J Anat. 1999l;195 (Pt 1):11-8.
7. Simon E, Hiller L. Opioid peptides and opioid receptors. In: Siegel GJ, Agranoff BW. Basic neurochemistry: molecular and medical aspect. 5th ed. Raven Press. 1994: 321-39.
8. Williams JT, Christie MJ, Manzoni O. Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. Physiol Rev. 2001;81(1):299-343.

9. Lornoy A, Michail V, Lukooshov I. The developmental outcome of children born to heroin - dependent mother rose at Home or dapped. Child Abuse. 1996; 20: 383-396.
10. Ray JR, Dubinj W, Blechner JN. Fetal growth retardation following maternal morphine administration: nutritional or drug effect? Biol Neonal. 1977; 32(3-4): 222-8.
11. Choo RE, Huestis MA, Schroeder JR, Shin AS, Jones HE. Neonatal abstinence syndrome in methadone-exposed infants is altered by level of prenatal tobacco exposure. Drug Alcohol Depend. 2004;75(3):253-60.
12. Sadraie SH, Kaka GR, Sahraei H, Dashtnavard H, Bahadoran H, Mofid M, et al. Effects of maternal oral administration of morphine sulfate on developing rat fetal cerebrum: a morphometrical evaluation. Brain Res. 2008;1245:36-40
13. Soleimani M, Sahraei H, Sadooghi M, Maleki P. [Effects of prenatal morphine exposure on the basal ganglia development in rat embryo (Persian)]. The Scientific Journal of Arak Medical University. 2009; 9: 53-61.
14. Nasiraei-Moghadam S, Sahraei H, Bahadoran H, Sadooghi M, Salimi SH, Kaka GR, et al.
Effects of maternal oral morphine consumption on neural tube development in Wistar rats. Brain Res Dev Brain Res. 2005;159(1):12-7.
15. Saeedabadi S, Sadooghi M, Sahraei H, Bahadoran H, Fahanik Babaei J, Jalili C. [Effects of oral morphine on the development of olfactory bulb in rat embryo (Persian)]. The Scientific Journal of Arak Medical University. 2008; 11: 1-8.
16. Nasiraei-Moghadam S, Bahadoran H, Saeedabady S, Shams J, Sahraei H. Oral administration of morphine delay neural plate development of rat embryos. Physiology and Pharmacology. 2009; 12: 314-319.
17. Ramazany M, Tekyeh E, Zardooz H, Bahadoran H, Sahraei H. Morphine delays fovea development in the eyes of Wistar rat embryos; possible involvement of corticosterone. Physiology and Pharmacology 2009; 13: 271-8.
18. Taylor CC, Soong YI, Wu D, Yee JS, Szeto HH. Morphine stimulates adrenocorticotropin and cortisol release in the late-term ovine fetus. Pediatr Res. 1997;41(3):411-5.
19. Taylor CC, Wu D, Soong Y, Yee JS, Szeto HH. Opioid modulation of the fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis: the role of receptor subtypes and route of administration. J Pharmacol Exp Ther. 1997;281(1):129-35.
20. Weinstock M.The long-term behavioural consequences of prenatal stress. Neurosci Biobehav Rev. 2008;32(6):1073-86.
21. Van den Bergh BR, Mulder EJ, Mennes M, Glover V. Antenatal maternal anxiety and stress and the neurobehavioural development of the fetus and child: links and possible mechanisms. A review. Neurosci Biobehav Rev. 2005;29(2):237-58.
22. Halataei BA, Khosravi M, Arbabian S, Sahraei H, Golmanesh L, Zardooz H, et al.
Saffron (Crocus sativus) aqueous extract and its constituent crocin reduces stress-induced anorexia in mice. Phytother Res. 2011;25(12):1833-8.
23. Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques. 5th ed. Churchill Livingston. 2002; 125-38.
24. Ahmed MS, Schoof T, Zhou DH, Quarles C. Kappa opioid receptors of human placental villi modulate acetylcholine release. Life Sci. 1989;45(25):2383-93.
25. Kazemi M, Azarnia M, Sahraei H. Effect of oral morphine on the development of placenta in Wistar rat. Developm Biol. 2009; 11: 35-40.
26. Derijk RH, de Kloet ER. Corticosteroid receptor polymorphisms: determinants of vulnerability and resilience. Eur J Pharmacol. 2008;583(2-3):303-11.
27. Meaney MJ, Brake W, Gratton A. Environmental regulation of the development of mesolimbic dopamine systems: a neurobiological mechanism for vulnerability to drug abuse? Psychoneuroendocrinology. 2002;27(1-2):127-38.
28. Mulder EJ, Robles de Medina PG, Huizink AC, Van den Bergh BR, Buitelaar JK, Visser GH. Prenatal maternal stress: effects on pregnancy and the (unborn) child. Early Hum Dev. 2002;70(1-2):3-14.
29. Kapas S, Purbrick A, Hinson JP. Action of opioid peptides on the rat adrenal cortex: stimulation of steroid secretion through a specific mu opioid receptor. J Endocrinol. 1995;144(3):503-10.
30. Kazemi M, Sahraei H. Effects of oral morphine consumption on epandimal canal and spinal cord development in Wistar rat embryos. Medical South. 2011; 1: 9-16.