

# تأثیر مصرف خوراکی مورفین در دوران بارداری بر تکامل شبکه چشم جنین موش‌های بزرگ آزمایشگاهی

الهه تکیه<sup>۱\*</sup> (Ph.D)، مینا رضانی<sup>۱</sup> (Ph.D)، حمیرا زردوز<sup>۲</sup> (Ph.D)، لیلا گل‌منش<sup>۴</sup> (Ph.D)، حسین بهادران<sup>۵</sup> (Ph.D)، هدایت صحرایی<sup>۶</sup> (Ph.D)

- ۱- دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی
- ۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد آشتیان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی
- ۳- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی
- ۴- دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی
- ۵- دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات علوم رفتاری، گروه علوم تشریح
- ۶- دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی

## چکیده

سابقه و هدف: سیستم بینایی متشکل از قسمت‌های بسیار متنوع با منشا جنینی متفاوت است. در این تحقیق، اثر مورفین خوراکی بر روی تکامل شبکه چشم جنین موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفته است. مواد و روش‌ها: تعداد ۴۰ سر موش ماده بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. پس از حصول اطمینان از بارداری (تعیین روز صفر جنینی، E0)، موش‌های ماده به دو گروه آزمایش و شاهد تقسیم شدند. گروه شاهد در طول آزمایش آب شرب شهری و گروه آزمایش آب شرب شهری حاوی مورفین (۵mg/ml) دریافت کردند. در روز ۱۷ بارداری (E17) موش‌ها با استفاده از کلروفورم کشته شده و جنین‌ها طی عمل جراحی از بدن حیوان خارج شد. جنین‌ها به مدت یک ماه در محلول فیکساتیو فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند. سپس سر جنین‌ها جدا و مراحل پردازش بافتی، برش‌گیری و رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین-اُوزین انجام شد و به وسیله میکروسکوپ نوری و نرم‌افزار موتیک (MOTIC) شبکه آن‌ها تحت بررسی قرار گرفت. یافته‌ها: نتایج ما نشان داد که قطر شبکه در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد کاهش پیدا کرده است. دو لایه شبکه رنگ‌دانه‌دار و شبکه عصبی در گروه شاهد به طور طبیعی شکل گرفته ولی در گروه آزمایش از نظر زمانی به تاخیر افتاده و فضای خالی بین سلول‌ها مشاهده می‌شد. همچنین، میزان کورتیکوسترون پلازما در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بود. نتیجه‌گیری: این نتایج نشان می‌دهد که مصرف مورفین در زمان بارداری باعث ایجاد نقص و تاخیر در تکوین شبکه چشم جنین شده است که ممکن است به دلیل افزایش غلظت کورتیکوسترون پلازما در گروه آزمایش باشد.

واژه‌های کلیدی: سیستم بینایی، شبکه، مورفین، موش بزرگ آزمایشگاهی

بیرونی است اهمیت ویژه‌ای در حفظ حیات اکثر موجودات زنده دارد [۱]. سیستم بینایی یک مجموعه پیچیده متشکل از

## مقدمه

سیستم بینایی به دلیل این‌که دریافت‌کننده تحریکات

سانتی‌گراد) با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. بعد از ۲۴ ساعت جفت شدن حیوانات با موش‌های نر و حصول اطمینان از بارداری (مشاهده اسپرم در گسترش واژنی)، موش‌های نر جدا شده و روز صفر بارداری (روز صفر جنینی - EO) تعیین شد. سپس موش‌های باردار به دو گروه شاهد و آزمایش تقسیم شدند (دو سر در هر قفس). گروه شاهد در مدت تیمار آب شرب شهری و گروه آزمایش آب شرب شهری حاوی مورفین (۰/۰۵mg/ml) دریافت کردند (برای دو سر موش ۰/۴۵ mg مورفین در ۹۰ میلی‌لیتر آب شرب لوله کشی شهر) [۴]. میزان مورفین مصرفی برای ۱۴ ml آب به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن موش محاسبه گردید اما سعی بر این بود که هر مقدار آب مورد نیاز حیوان بود در اختیار قرار داده شود. برای غلبه بر تلخی مزه مورفین، به هر ۱۰۰ میلی‌لیتر آب موش‌ها در دو روز اول مقدار ۰/۱ گرم سوکروز اضافه شد. همین کار در دو روز اول برای گروه کنترل هم انجام شد. لازم به توضیح است که در این روش با توجه به مدت زمان تجویز مورفین و نیز دوز بسیار کم آن نسبت به روش معمول القاء اعتیاد به مورفین به روش خوراکی، حیوانات معتاد محسوب نمی‌شدند و به همین دلیل این روش تنها به بررسی اثر دارو بر تکوین جنین تمرکز دارد و هیچ‌کدام از الگوهای مصرف مورفین از جمله الگوی ایجاد اعتیاد، الگوی مصرف مزمن، الگوی ضد اضطراب و یا الگوی ضد درد را شامل نمی‌شود. هرچند که تا حدودی به الگوی مصرف مزمن دارو نزدیک است. البته در این تحقیق مقدار مصرف آب توسط حیوانات اندازه‌گیری نشد چرا که به دلیل باردار بودن حیوانات در هر دو گروه کنترل و آزمایش، آب قرار داده شده توسط حیوانات مصرف می‌شد.

چون در روز ۱۷ بارداری موش‌ها با استفاده از دوز بالای کلروفورم کشته می‌شدند و این امر باعث افزایش شدید غلظت کورتیکوسترون پلازما در حیوانات می‌شد، و از سوی دیگر، در روزهای ۱۴، ۱۵ و ۱۶ بارداری به دلیل افزایش حجم شکم حیوانات امکان کنترل آن‌ها برای خون‌گیری وجود نداشت، لذا نزدیک‌ترین زمان به روز کشته شدن حیوانات که

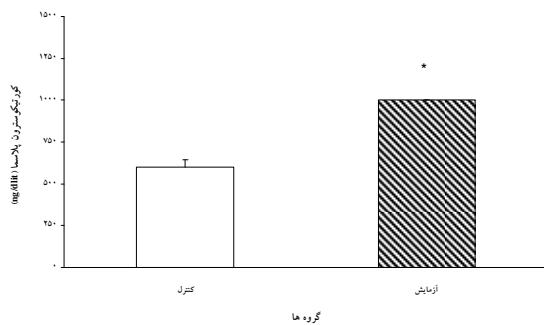
چندین نوع بافت و سلول متفاوت است. تکامل دقیق و صحیح این قسمت‌ها و تداخل و ارتباط آن‌ها با هم در تشکیل یک سیستم کامل با عمل‌کرد صحیح الزامی است، و ایجاد نقص در هر مرحله از تکامل هر یک از این قسمت‌ها باعث ایجاد نقص در کل سیستم می‌شود [۲].

مورفین می‌تواند به راحتی از سد جفتی عبور کرده و به جنین برسد، به همین دلیل مصرف مورفین در زمان بارداری می‌تواند باعث ایجاد نقص‌های بسیاری در تکامل بافت‌ها و سلول‌های جنینی شود [۳]. آزمایش‌های قبلی انجام شده اثبات کرده‌اند که مصرف مورفین می‌تواند باعث ایجاد تاخیر در تکامل صفحه عصبی [۴]، لوله عصبی [۵]، و قشر مخ [۶] در جنین‌های موش‌های بزرگ آزمایشگاهی شود. سیستم بینایی را نیز می‌توان قسمتی از سیستم عصبی مرکزی به حساب آورد، زیرا مرحله اول تکامل و شکل‌گیری سیستم بینایی از ناحیه دیانسفال مغز پیشین است که حباب بینایی است و در نهایت به قسمت بسیار مهم سیستم بینایی یعنی شبکیه تمایز می‌یابد [۷].

در تحقیق حاضر توجه ما بر اثر مورفین در شبکیه معطوف شده است. شبکیه قسمت عصبی چشم است و تکامل صحیح آن نقش بسیار مهمی در عمل‌کرد سیستم بینایی دارد [۸]. تکامل شبکیه در چندین مرحله شامل تعیین پتانسیل شبکیه در سیستم عصبی مرکزی، تکامل حباب بینایی و تمایز فنجان بینایی به سه قسمت اصلی سیستم بینایی (یعنی: عصب بینایی، شبکیه رنگ‌دانه‌دار و شبکیه عصبی) است. این مراحل به وسیله فاکتورهای رونویسی و بیان دقیق ژن‌های ویژه تنظیم می‌شود. ایجاد نقص و یا تاخیر در تکامل هر کدام از این قسمت‌ها به ایجاد نقص کلی در عمل‌کرد سیستم بینایی منجر می‌شود [۸].

## مواد و روش‌ها

در این آزمایش ۴۰ سر موش ماده بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار (با میانگین وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم، خریداری شده از انستیتو پاستور ایران) مورد استفاده قرار گرفتند (دو موش در هر قفس). حیوانات در درجه حرارت محیط (۱±۲۴ درجه



شکل ۱. تاثیر تجویز خوراکی مورفین بر غلظت کورتیکوسترون پلاسمای در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده باردار.

### بررسی اثر تجویز خوراکی مورفین بر تغییرات مورفولوژیک شبکه

۱- بررسی‌های میکروسکوپی. بررسی‌های میکروسکوپی (اندازه‌گیری طول و وزن جنین‌ها) نشان دادند که وزن و طول جنین‌ها در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری ندارد ( $P < 0.01$ ) و (شکل ۲ و ۳-الف و ۳-ب).



شکل ۲. تصویر جنین ۱۷ روزه موش بزرگ آزمایشگاهی در گروه‌های کنترل (A) و آزمایش (B). بجز ناهنجاری ظاهری در جنین گروه آزمایش (عدم تقارن اعضاء و دم)، جنین‌ها از نظر اندازه تفاوت زیادی با هم ندارند (این شکل با اجازه کتبی از مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی دوباره چاپ شده است).

۲- بررسی مورفومتریک. بررسی‌های مورفومتریک نشان دادند که اندازه کلی و ضخامت شبکه در گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (شکل ۴).

روز سیزدهم بود برای خون‌گیری و تعیین غلظت کورتیکوسترون پلاسمای انتخاب شد. در روز ۱۳ بارداری (E13) از گوشه چشم (Retro-orbital Sinus) موش‌های هر دو گروه خون‌گیری به عمل آمد. از موش‌های مادر مقدار ۰/۹ میلی‌لیتر خون گرفته شد و در لوله‌های اپندورف حاوی ۰/۱ میلی‌لیتر محلول سیترات سدیم ۵٪ ریخته و پس از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ برای مدت ۵ دقیقه، محلول روئی جدا شده و غلظت کورتیکوسترون آن با روش الایزا و در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (کیت الایزا کورتیکوسترون موش بزرگ آزمایشگاهی از شرکت DRG-Germany).

در روز ۱۷ بارداری موش‌ها با استفاده از دوز بالای کلروفورم کشته شده و جنین آن‌ها به همراه رحم توسط جراحی از بدن خارج شد. جنین‌ها به مدت یک ماه در محلول فرمالین ۱۰٪ فیکس شدند. سپس جنین‌ها از رحم جدا و وزن آن‌ها به وسیله‌ی ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم و طول قدامی-خلفی آن‌ها به عنوان معیاری از طول جنین با کولیس با دقت ۰/۰۵ میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

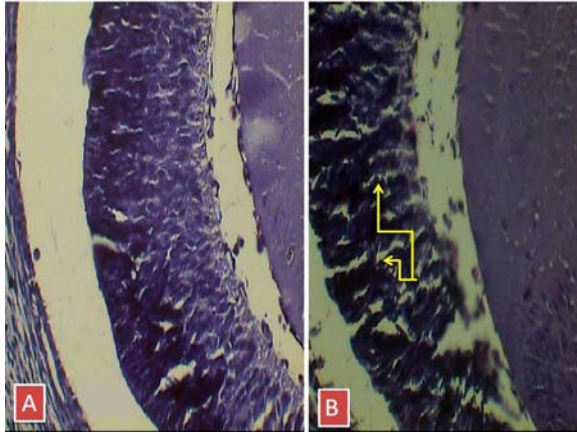
سر جنین‌ها جدا و پس از گذراندن مرحله پردازش بافتی و تهیه برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون به روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ آمیزی شدند [۹]. سپس نمونه‌های رنگ آمیزی شده به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری متصل به رایانه و نرم‌افزار موتیک مورد بررسی قرار گرفتند. برای محاسبات آماری از آزمون تی غیر مزدوج استفاده شد. اطلاعات به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شدند  $P < 0.05$  سطح معنی‌دار بدون اختلافات در نظر گرفته شد.

## نتایج

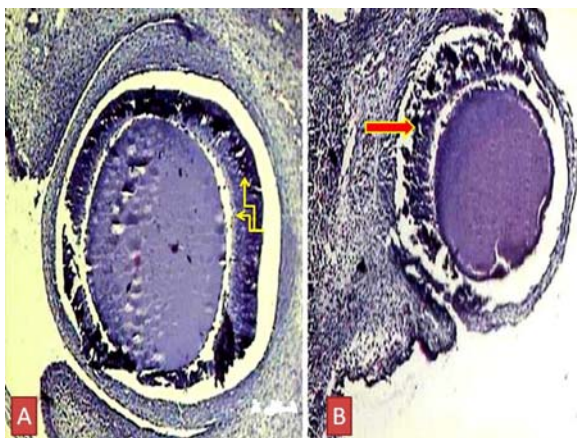
اثر مورفین بر غلظت پلاسمایی هورمون کورتیکوسترون موش‌های ماده باردار. اندازه‌گیری سطح کورتیکوسترون پلاسمای در گروه آزمایش در مقایسه با گروه شاهد نشان‌دهنده افزایش قابل ملاحظه غلظت کورتیکوسترون در گروه آزمایش بود که این افزایش از نظر آماری کاملاً معنی‌دار می‌باشد

(شکل ۱). (www.SID.ir)

گروه شاهد دو لایه شبکیه عصبی و شبکیه رنگدانه‌دار به طور نرمال شکل گرفته‌اند ولی در گروه آزمایش لایه‌های شبکیه تشکیل نشده است و تمایز سلول‌های شبکیه در گروه آزمایش از نظر زمانی به تاخیر افتاده است (شکل ۵ و ۶).



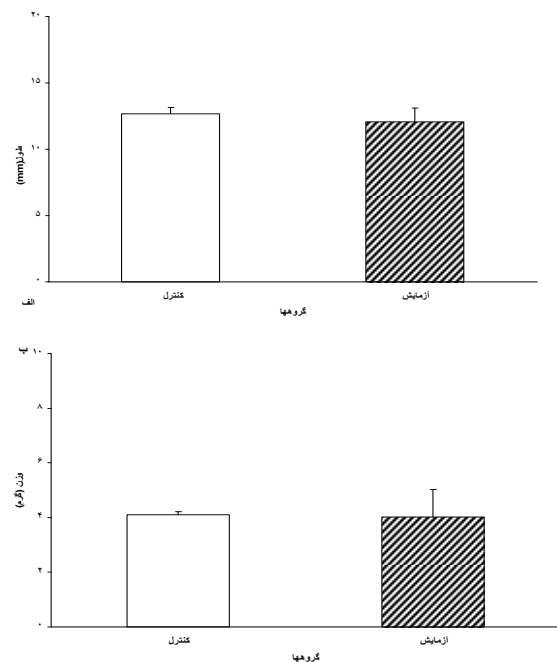
شکل ۵. برش طولی از ناحیه چشم جنین ۱۷ روزه موش بزرگ آزمایشگاهی. A: چشم جنین گروه شاهد و B: جنین گروه آزمایش. تشکیل لایه‌های شبکیه رنگدانه‌دار و شبکیه عصبی در گروه شاهد (با پیکان نشان داده شده است) به خوبی مشاهده می‌شود. ولی در گروه آزمایش لایه‌ها تشکیل نشده‌اند.



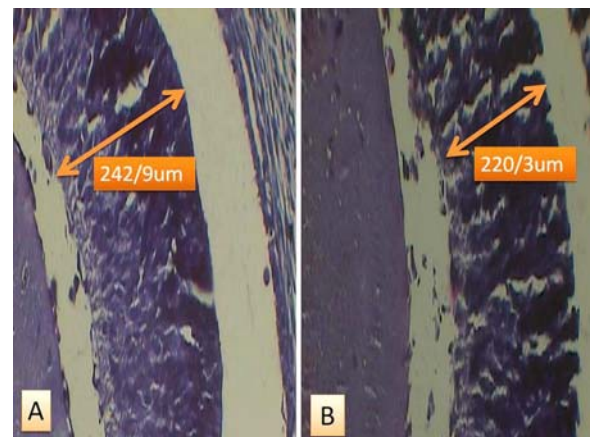
شکل ۶. برش عرضی از ناحیه چشم جنین ۱۷ روزه. A: نشان دهنده چشم جنین گروه شاهد و B: چشم جنین گروه آزمایش. در گروه آزمایش ارتباطات سلولی دچار اختلال شده و انسجام ناحیه شبکیه از بین رفته است (با پیکان نشان داده شده است).

## بحث و نتیجه گیری

مطالعه نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که مصرف مورفین خوراکی در طی بارداری، باعث ایجاد تاخیر و نقص در تکامل بخش مهمی از سیستم بینایی جنین یعنی شبکیه می‌شود. هم‌چنین این آزمایش نشان داد که مصرف مورفین باعث



شکل ۳. الف: طول جنین‌ها در گروه کنترل و آزمایش. تجویز مورفین خوراکی با دوز مورد استفاده در این تحقیق، اثری را بر طول جنین‌ها ندارد. ب: وزن جنین‌ها در گروه کنترل و آزمایش. تجویز مورفین خوراکی با دوز مورد استفاده در این تحقیق، اثری را بر وزن جنین‌ها ندارد.



شکل ۴: برش عرضی از ناحیه چشم جنین ۱۷ روزه موش بزرگ آزمایشگاهی (قسمت شبکیه). تصویر A نشان دهنده چشم جنین گروه شاهد و تصویر B چشم جنین گروه آزمایش است. کاهش ضخامت شبکیه (با خط نشان داده شده است) در گروه آزمایش به خوبی مشخص است. (بزرگنمایی  $\times 100$ )

۳- بررسی میکروسکوپی. در مطالعه میکروسکوپی این ناحیه به نظر می‌رسد که اولاً تعداد و اندازه سلول‌ها در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد کم‌تر است و ثانیاً احتمالاً به دلیل اشکال در ماتریکس بین سلولی در گروه آزمایش، فضاهای خالی بین سلول‌ها نیز در این گروه دیده می‌شود. در

در تحقیق حاضر، تجویز مورفین باعث تغییر طول و وزن جنین‌ها در گروه آزمایش نشد که می‌تواند به معنای عدم توانائی مورفین در کاهش رشد جنین در گروه آزمایش باشد. در تحقیقات قبلی مشخص شده است که تجویز خوراکی مورفین باعث کاهش طول و وزن جنین‌ها در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی می‌گردد [۴]. دلیل این‌که چرا مورفین اثربخشی لازم را در تحقیق حاضر در کاهش رشد جنین‌ها نداشته است ممکن است به دلیل دوز مصرفی کم‌تر مورفین در این تحقیق نسبت به تحقیقاتی بود که کاهش وزن و طول جنین را گزارش کرده‌اند.

نتایج ما نشان دادند که غلظت پلاسمائی کورتیکوسترون در موش‌های گروه آزمایش که مورفین دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد افزایش یافته بود. کورتیکوسترون یک گلوکوکورتیکوئید مهم در جنونگان می‌باشد که در پاسخ به استرس ترشح شده و برای عمل‌کرد سیستم ایمنی و حفظ همئوستاز بدن نقش اساسی را ایفا می‌کند [۱۴]. ایجاد هر گونه تغییر غیر طبیعی در میزان سطح کورتیکوسترون پلازما باعث ایجاد اختلال سیستم اندوکرین بدن می‌شود [۱۵]. آزمایش‌های قبلی نشان داده‌اند که القاء استرس باعث افزایش کورتیکوسترون موش‌های باردار می‌شود. هم‌چنین تحقیقات قبلی اثبات کرده‌اند که هر گونه افزایش غیرطبیعی در میزان کورتیکوسترون پلاسمایی مادر به یک افزایش مضاعف و چند برابر در بدن جنین منجر می‌شود، زیرا در زمان بارداری، هورمون CRF (فاکتور محرک کورتیکوتروپین) که نقش بسیار مهمی در ترشح هورمون کورتیکوسترون دارد، علاوه بر هیپوتالاموس از جفت نیز ترشح می‌شود [۱۶]. از نظر عمل‌کرد این هورمون جفتی مشابه به هورمون آزاد شده از هیپوتالاموس است و به بدن هر دوی جنین و مادر ترشح می‌شود (در بدن مادر غیر فعال شده ولی در بدن جنین اثرات خود را ایفا می‌کند). کورتیکوسترون اهمیت بسیار ویژه‌ای در تکامل و عمل‌کرد سیستم عصبی دارد، در نتیجه هرگونه افزایش در میزان هورمون کورتیکوسترون مادر به یک افزایش چند برابری در بدن جنین منجر می‌شود که این عامل می‌تواند

افزایش سطح کورتیکوسترون پلازما در موش‌های ماده باردار شده است. که این می‌تواند یکی از چندین مکانیسم اصلی اثرگذاری مورفین بر روی تکامل جنین باشد.

مورفین از طریق چندین مکانیسم می‌تواند اثرات مخرب خود را بر روی تکامل سیستم‌ها و بافت‌های جنین اعمال کند. مورفین به دلیل کوچکی و لیپوفیل بودن مولکول آن، به راحتی می‌تواند از سد جفتی عبور کرده و به جنین برسد و با اثر بر روی گیرنده‌های اختصاصی خود احتمالاً باعث ایجاد تغییرات در عمل‌کرد سلول‌های جنین شود [۱۰، ۳].

مورفین دارای گیرنده‌های ویژه و اختصاصی به نام گیرنده‌های اوبیوئیدی است. این گیرنده‌ها دارای انواع متعددی هستند که مهم‌ترین آن‌ها شامل گیرنده‌های مو، دلتا و کاپا می‌باشند [۱۱]. این گیرنده‌ها پراکندگی زیادی در سلول‌های مختلف جنین دارند [۹]. مورفین با اثر بر روی این گیرنده‌ها تغییرات زیادی را در کانال‌های موجود در سلول‌ها به‌ویژه کانال‌های کلسیم ایجاد می‌کند که این می‌تواند باعث ایجاد نقص و تاخیر در تکامل و تمایز سلول‌ها شود.

وجود گیرنده‌های اوبیوئیدی علاوه بر سلول‌های جنینی بر روی جفت نیز به اثبات رسیده است ولی نقش آن‌ها هنوز به طور کامل مشخص نشده است. تحقیقات قبلی نشان می‌دهند که مورفین با اثر بر گیرنده‌های اوبیوئیدی جفت و انقباض عروق جفتی می‌تواند باعث کاهش خون‌رسانی به جنین و در نتیجه احتمالاً بروز نقص و تاخیر در تکامل تمام اندام‌های جنین شود [۱۲]. در تحقیقات قبلی مشخص شده است که مصرف خوراکی مورفین تکوین عقده‌های قاعده‌ای را در روزهای ۱۲، ۱۴ و ۱۷ به تاخیر می‌اندازد [۱۳] و هم‌چنین باعث ایجاد نقص و تاخیر هم از نظر زمانی و هم از نظر ساختار بافتی در صفحه عصبی و لوله عصبی می‌شود [۵، ۶]. تکامل اولیه سیستم بینایی به ویژه شبکیه از سیستم عصبی مرکزی (ناحیه دیانسفال) آغاز می‌شود و تکامل صحیح این قسمت به تکامل صحیح لوله عصبی وابسته است و ایجاد نقص و تاخیر در تکامل صفحه عصبی و لوله عصبی می‌تواند به ایجاد نقص در تکامل سیستم بینایی به‌ویژه شبکیه منجر شود.

قرار دهد. یکی از مهم‌ترین این ژن‌ها که در تکامل شبکه‌ی و عدسی نقش اساسی را ایفا می‌کند، ژن PAX6 است که هر گونه تغییر در بیان آن می‌تواند باعث اختلال در تکامل سیستم بینایی شود [۲۵]. ممکن است کورتیکوسترون با اثر بر بیان این ژن و تغییر بیان آن در سلول‌های شبکه‌ی، اثر خود را بر تکوین ناقص شبکه‌ی را القاء کرده باشد. البته اثبات این فرضیه نیازمند تحقیقات بیش‌تری می‌باشد که در آینده بایستی انجام شود.

تحقیق حاضر نشان داد که مورفین اثری منفی بر کاهش تکوین شبکه‌ی چشم در جنین موش‌های باردار دارد ولی این کار را ممکن است با تحریک ترشح هورمون کورتیکوسترون انجام داده باشد. برای اثبات بیش‌تر این فرضیه احتیاج به تحقیقات بیش‌تر در سطح مولکولی و تعیین نقش گیرنده‌های کورتیکوسترون بر روی سلول‌های مختلف جنینی، و یا بررسی تغییرات بعد از تولد تا دوران بلوغ آن‌ها است.

## تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) انجام شد. بدین وسیله از حمایت مرکز مذکور قدردانی می‌شود. محققان بر خود لازم می‌دانند تا از زحمات سرکار خانم مولود افشار هاشم‌خانی کمال تشکر را داشته باشند.

## منابع

- [1] Kardong K. Vertebrate comparative anatomy function evolution. Mc Graw Hill; 2002; 762.
- [2] Scott, G.S. The central nervous system and cell-cell communication in development. In: SS Gilbert (Editor), Developmental Biology, Sinauer Associates Inc, Massachusetts; 2000, 143-148.
- [3] Kopcky EA, Simone C, Knie B. and Koren G. Transfer of morphine across the human placenta and its interaction with naloxone. Life Sci 1999; 65: 2359-2371.
- [4] Nasiraei-Moghadam S, Bahadoran H, Saeedabady S, Shams J. and Sahraei H. Oral administration of morphine delay neural plate development of rat embryos. Physiol Pharmacol J 2009; 12: 314-319. (Persian).
- [5] Nasiraei-Moghadam S, Sahraei H, Bahadoran H, Sadooghi M, Salimi SH, Kaka GR. and et al. Effects of maternal oral morphine consumption on neural tube development in Wistar rats. Brain Res Deve Brain Res 2005; 159: 12-17.
- [6] Sadraie SH, Kaka GR, Sahraei H, Dashtnavard H, Bahadoran H, Mofid M. and et al. Effects of maternal oral administration of morphine Sulfate on developing rat fetal

منجر به بروز اختلال در رشد و نمو طبیعی دستگاه عصبی جنین موش‌ها شود [۱۶]. این عقب‌ماندگی رشدی در نواحی مختلف دستگاه عصبی از جمله سیستم لیمبیک [۱۷]، دستگاه حرکتی و قشر مخ [۱۸] گزارش شده است. این‌که چرا تجویز مورفین می‌تواند به افزایش ترشح کورتیکوسترون منجر شود، سوالی است که مورد تحقیق فراوان قرار گرفته است [برای مرور رجوع شود به: ۱۹]. وجود گیرنده‌های اوبیوئیدی هم در هیپوتالاموس و هم بر روی کورتکس آدرنال در چندین آزمایش به اثبات رسیده است [۲۰]. ولی آزمایش‌ها نشان داده‌اند که جایگاه اصلی فعالیت مورفین بر روی کورتکس آدرنال است که باعث افزایش ترشح کورتیکوسترون از کورتکس آدرنال می‌شود. در آزمایشات گذشته به اثبات رسیده است که در ناحیه‌ی فاسیکولا و رتیکولاریس (دو ناحیه داخلی کورتکس) گیرنده مو و گیرنده کاپا وجود دارند و مصرف آگونیست اختصاصی این گیرنده‌ها باعث افزایش ترشح کورتیکوسترون می‌شود [۲۱].

علاوه بر وجود گیرنده‌های اختصاصی اوبیوئیدها نوع دیگری از گیرنده بر روی کورتکس آدرنال وجود دارد که دارای یک نقش احتمالی در میانجی‌گری اثر مورفین در تحریک تولید و ترشح کورتیکوسترون از غده آدرنال است، گیرنده NMDA گلوتامات که وجود آن بر روی غده آدرنال در چندین آزمایش به اثبات رسیده است به طور غیر مستقیم به وسیله‌ی مورفین تحریک شده و باعث ترشح کورتیکوسترون می‌شود [۲۲، ۲۳]. کورتیکوسترون دارای اثرات بسیار گسترده‌ای بر تکوین، تکثیر و مهاجرت سلول‌هاست. کورتیکوسترون باعث تکثیر بیش از حد سلول‌ها و اختلال در رشد آن‌ها می‌شود، هم‌چنین این هورمون باعث به تاخیر افتادن مهاجرت سلول‌ها در طی تکامل جنین می‌شود [۲۴]. در تحقیق حاضر نیز احتمال این‌که کورتیکوسترون باعث بروز تغییرات دیده شده در شبکه‌ی باشد چندان دور از ذهن نیست. به علاوه کورتیکوسترون بر بیان ژن‌های سلول‌های هدف اثر گذاشته و هر گونه افزایش غیر طبیعی کورتیکوسترون می‌تواند باعث تغییر بیان ژن‌ها شده و تکامل سلول‌ها را تحت تاثیر

- [17] Meany MJ, Brake W. and Gratton A. Environmental regulation of the development of mesolimbic dopamine systems: a neurobiological mechanism for vulnerability to drug abuse. *Psychoneuroendocrinology* 2002; 27: 127-138.
- [18] Weinstock M. The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neurosci Biobehav Rev* 2008; 32: 1073-1086.
- [19] Soleimani M, Sahraei H, Sadooghi M. and Maleki P. Effects of prenatal morphine exposure on the basal ganglia development in rat embryo. *The Scientific Journal of Arak Medical University* 2006; 9: 53-61. (Persian).
- [20] Pascoe JE, Williams KL, Mukhopadhyay P, Rice KC, Woods JH. and Ko MC. Effects of mu, kappa, and delta opioid receptor agonists on the function of hypothalamic-pituitary-adrenal axis in monkeys. *Psychoneuroendocrinology* 2008; 33: 478-486.
- [21] Kapas S, Purbrick A. and 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: 503-510.
- [22] Prinik Z, Schwendt M. and Jezova D. Single dose of morphine influences plasma corticosterone and gene expression of main NMDA receptor subunit in the adrenal gland but not in the hippocampus. *Endocr Regul* 2001; 35: 187-193.
- [23] Taylor CC, Soong YI, Wu D, Yee JS. and Szeto HH. Morphine stimulates adrenocorticotropin and cortisol release in the late-term ovine fetus. *Pediatr Res* 1997; 41: 411-415.
- [24] Jenkins SA, Muchow M, Richards MP, Mc Murtry JP. and Porter TE. Administration of adrenocorticotropin hormone during chicken embryonic development prematurely induces pituitary growth hormone cells. *Endocrinology* 2007; 148: 3914-3921.
- [25] Wolf LV, Yang Y, Wang J, Xie Q, Brounger B, Tam ER. and et al. Identification of Pax6 -dependent Gene regulatory network in the mouse lens. *Plos One* 2009; 4: e4159.
- cerebrum: a morphometrical evaluation. *Brain Res* 2008; 1245: 36-40.
- [7] Sefton AJ, Dreher B, Harvey A. Visual System. In: G. Paxinos (Editor), *The Rat Nervous System*, Academic Press, Sydney; 1995, 1083-1163.
- [8] Rossant G, Tam PLP. *Mouse Development, Patterning, Morphogenesis, and Organogenesis*. Academic Press, London; 2002; 520-538.
- [9] Bancroft JD, Gamble M. *Theory and Practice of Histological Techniques*, 5th ed. London: Churchill Livingstone; 2002, 125-138.
- [10] Fowden AL, Forhead AG, Coan MP. and Burton GJ. The placenta and intrauterine programming. *J Neuroendocrinol* 2008; 20: 439-450.
- [11] Kieffer BL. and Evans CJ. Opioid receptors: from binding sites to visible molecules in vivo. *J Neuropharmacology* 2009; 56: 205-212.
- [12] Ahmed MS, Schoof T, Zhou DH. and Quarles C. Kappa opioid receptors of human placental villi modulate acetylcholine release. *Life sci* 1989; 45: 2383-2393.
- [13] Soleimani M, Sahraei H, Sadooghi M. and Maleki P. Effects of prenatal morphine exposure on the basal ganglia development in rat embryo. *The Scientific Journal of Arak Medical University* 2006; 9: 53-61. (Persian).
- [14] Derijik RH. and de Kloet ER. Corticosteroid receptor polymorphism: Determinants of vulnerability and resilience. *Eur J Pharmacol* 2007; 538: 303-311.
- [15] Gutteling BM, de Weerth C. and Buttelaar JK. Prenatal stress and mixed-handedness. *Pediatr Res* 2007; 62: 586-590.
- [16] Mulder EJ, Robles de Medina PG, Huizink AC, Van den Bergh BR, Buitelaar JK. and Visser GH. Prenatal maternal stress: effects on pregnancy and the (unborn) child. *Early Hum Dev* 2002; 70: 3-14.



## Effects of oral morphine consumption during pregnancy on retina development of the Wistar rat embryo

Elaheh Tekieh (Ph.D)<sup>1</sup>, Mina Ramezani (Ph.D)<sup>2</sup>, Homeira Zardooz (Ph.D)<sup>3</sup>, Leyla Goolmanesh (Ph.D)<sup>4</sup>, Hossein Bahadoran (Ph.D)<sup>5</sup>, Hedayat Sahraei (Ph.D)<sup>\*6</sup>

1 – Dept. of Biology, School of Science, Payame-Noor University

2 – Dept. of Biology, School of Science, Islamic AZAD University, Ashtian Branch

3 – Dept. of Physiology, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences

4 – Cell Biology Research Center, Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5 – Dept. of Anatomy, Faculty of Medicine and Behavioral Sciences Research Center, Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences, Tehran, Iran

6- Dept. of Physiology and Biophysics, Faculty of Medicine and Applied Neuroscience Research Center, Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 19 Jan 2010 Accepted: 27 Apr 2010)

**Introduction:** Visual system is composed from different parts with different embryonic origins. In the present study, the effect of oral morphine consumption on retina development of the Wistar rat embryo was investigated.

**Material and Methods:** 40 female Wistar rats (250-300 g) were used. After mating, the embryonic zero day (E0) was determined and then the pregnant females were divided randomly into experimental or control groups. Controls received tap water whereas experiments received morphine (0.05 mg/ml) in their waters. On the E17, pregnant females were killed and embryos were removed and kept in formalin 10% for 30 days. Then, heads of the embryos were dissected and processed by routine procedures. Sagittal sections of 5um were stained with haematoxylin–eosin and examined by using a light microscope and the Motic soft ware.

**Results:** The retinal diameter was reduced in the experimental group. In addition, the granular and neural layers were fully developed in the control group, but they showed delayed developments in the experimental group. At last, there were empty pores between cells in the experimental group. Moreover, the plasma corticosterone levels were increased in the experimental group.

**Conclusion:** These results indicated that oral morphine consumption during pregnancy may induce defects in retina development in the rat embryo. This may be related to an increased in the plasma corticosterone levels.

**Key Words:** Visual System, Development, Retina, Morphine, Embryo, Rat

\* Corresponding author: Fax: +98 21 26127257; Tel: +98 21 26127257  
h.sahraei@bmsu.ac.ir