

Effect of oral morphine consumption on ependym cells of choroid plexus in development of central nervous system in wistar rat embryos

Masoomeh Kazemi¹, Hedayat Sahraei², Mahnaz Azarnia³, Hossein Bahadoran⁴

¹ Department of Biology, Islamic Azad University of Tehran North Branch, Tehran, Iran

² Department of Physiology and Biophysics, Neuroscience Research Center, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Department of Biology, Faculty of Science, Tarbiat Moalem University, Tehran, Iran

⁴ Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Baqiyatallah^(a.s.) University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received March 31, 2010 ; Accepted July 7, 2010)

Abstract

Background and purpose: Previous studies have shown that morphine consumption during pregnancy could delay placental and embryonic development or could cause abnormal function of nervous system. The present study evaluates the effect of oral morphine consumption on choroid plexus ependym cells of central nervous system development in Wistar rats.

Materials and methods: Wistar rats (170-200g) were used in this study. The experimental groups received 0.05 mg/ml of morphine by tap water while after pregnancy, the control group received water only. On 14th and 17th days of pregnancy, the pregnant animals were anaesthetized by chloroform and the embryos were removed surgically. Then, embryos were fixed in formalin 10% for 4 weeks. Embryonic tissues were harvested, processed, sectioned and stained using hematoxylin and eosin (H&E). Choroid plexus cells of central nervous system of embryos were studied using light microscope and MOTIC software.

Results: Our results show an increase in the choroid plexus area and number of the ependym cells among experimental group in comparison with controls.

Conclusion: Taken together, oral morphine consumption can inhibit choroid plexus cells to develop and function naturally. This defect may postpone the function and development of choroid plexus cells.

Key words: Ependym cells, choroid plexus, morphine, wistar rat

J Mazand Univ Med Sci 2009; 20(76): 15-22 (Persian).

اثر مصرف مورفین خوراکی بر تکوین سلول های اپاندیمی شبکه کروئیدی دستگاه عصبی مرکزی جنین موش آزمایشگاهی نژاد ویستار

معصومه کاظمی^۱ هدایت صحرایی^۲ مهناز آذرنیا^۳ حسین بهادران^۴

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات قبلی نشان داده است که مصرف مورفین در طی بارداری می تواند موجب تأخیر در نمو جفت و جنین و در نتیجه ایجاد نقایص جنینی گردد. این پژوهش به بررسی اثر مصرف مورفین توسط مادر باردار بر تکوین سلول های اپاندیمی شبکه کروئید دستگاه عصبی مرکزی در موش های بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار پرداخته است.

مواد و روش ها: در این تحقیق از موش های بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۷۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. گروه های آزمایش پس از بارداری، مورفین را با دوز ۰/۰۵ mg/ml در آب آشامیدنی دریافت نمودند. گروه کنترل آب آشامیدنی دریافت می کردند. در روز ۱۴ و ۱۷ بارداری موش های باردار با کلروفرم کشته شده و جنین ها به همراه رحم طی عمل جراحی از بدن حیوان خارج و به منظور فیکس شدن به مدت سی روز در محلول فرم آلدئید ۱۰ درصد قرار گرفتند. سپس جنین های فیکس شده مراحل پردازش بافتی را طی کرده و پس از برش گیری و رنگ آمیزی با روش هماتوکسیلین-ئوزین از نظر تکوین سلول های اپاندیمی شبکه کروئید دستگاه عصبی مرکزی جنین مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. برای تعیین تفاوت آماری در دو گروه از نرم افزار موتیک استفاده شد.

یافته ها: نتایج نشان داد سطح شبکه کروئید و همچنین تعداد سلول های اپاندیمیما در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار نشان داد ($p < 0/05$).

استنتاج: در مجموع، مصرف مورفین خوراکی می تواند از تکوین و عملکرد طبیعی سلول های شبکه کروئید جلوگیری کند. این آسیب ممکن است منشاء نقص عملکرد و تکوین سلول های شبکه کروئید در نوزادانی باشد که از مادران معتاد به دنیا آمده اند.

واژه های کلیدی: سلول های اپاندیمی، شبکه کروئید، مورفین، موش صحرایی

مقدمه

وابستگی و اعتیاد به داروهای اعتیادآور در کشور
مصرف کننده مواد مخدر را مادران تشکیل می دهد.
ما رو به گسترش است از طرفی عده ای از افراد
عوارض اعتیاد مادران باردار فقط منوط به خود آن ها

مؤلف مسئول: معصومه کاظمی - تهران: فلکه دوم صادقیه، بزرگ راه آیت الله کاشانی، خیابان گل های دوم، خیابان شانزدهم، پلاک ۷ واحد ۹ E-mail: mkazemih@yahoo.com

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

۲. گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

۳. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم

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

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۱۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۹/۲/۳۰ تاریخ تصویب: ۸۹/۴/۱۶

عمده ترین وظیفه شبکه کرونئید به عنوان منبع تامین کننده مواد مغذی مورد نیاز برای تکوین سلول های عصبی می باشد (۴،۳). مورفین، غیرقطبی و محلول در چربی می باشد به همین دلیل به راحتی می تواند از سد خونی جفت گذشته و بر سلول های جنین تاثیر گذار باشد (۱۰) بر اساس مطالعات قبلی مورفین خوراکی از سد جفتی گذشته و بر جنینی اثرات مخربی در تکوین لوله عصبی (۱۱) در موش بزرگ آزمایشگاهی و نیز تکوین مخچه در موش کوچک آزمایشگاهی دارد (۱۲). همچنین مطالعات قبلی ما نشان داد مصرف مواد مخدر توسط مادر باردار سبب تاخیر در بطن جانبی و شبکه کرونئید تکوین می شود (۱۳). دستگاه عصبی مستقیماً با تکوین و بقای فرد در ارتباط هستند، از طرف دیگر نقص در تکوین سلول های شبکه کرونئید در واقع منجر به نقص در عملکرد طبیعی این سلول ها از نظر ترشح مایع مغزی- نخایی و همچنین سایر مواد مورد نیاز تکوین دستگاه عصبی مرکزی می شود (۶،۴) از آن جایی که مادر باردار نسبت به عوامل خارجی مثل مورفین بسیار حساس است و اثرات مخرب اعتیاد سبب تاخیر در تکوین جنین که نتیجه نقص تکوین سلول های جفتی است و تخریب شبکه عروقی پرزهای جفتی می باشد (۱۵،۱۴) جنین سالم باید از مرکز سازماندهی (مغز) سالم برخوردار باشد و سلامت هر دو نیازمند مادر سالم است همین مسئله مهم انگیزه این تحقیق شد و این مطالعه با هدف تعیین اثر مصرف مورفین بر تکوین سلول های شبکه کرونئید در جنین های ۱۴ و ۱۷ روزه مادران باردار معتاد (موش های بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار) انجام شد.

مواد و روش ها

در این پژوهش تجربی، از موش صحرایی نژاد ویستار با میانگین وزنی ۱۷۰ تا ۲۰۰ گرم استفاده شد. موش ها در قفس های ۲ تایی و در درجه حرارت محیط (۱±۲۴ درجه سانتیگراد) با دوره نوری طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) در حیوانخانه دانشگاه

نیست بلکه جنین مادران معتاد نیز در معرض آسیب می باشند. مشکلات رفتاری و حرکتی زیادی در نوزادان مادران معتاد به اپیوئیدها گزارش شده است (۲،۱) افزایش انواع مواد اپیوئیدی و گسترش مصرف این مواد همچنین افزایش ناهنجاری ها در جنین مادران معتاد لزوم تحقیق در زمینه عملکرد داروهای اعتیاد آور در بدن موجودات زنده را نشان می دهد از آنجایی که دستگاه عصبی مرکزی به عنوان مرکز سازماندهی دستگاه های بدن می باشد و هر گونه نقص در سلول های عصبی سبب اختلال و نقص در عملکرد طبیعی سایر دستگاه های بدن می شود همین امر اهمیت تحقیق حاضر که بررسی اثر مورفین روی سلول های شبکه کرونئید جنین مادران معتاد را نشان می دهد. اهمیت شبکه کرونئید در خون رسانی سلول های مغزی و جذب و دفع مایع مغزی نخایی توسط سلول های اپاندیموسیت شبکه کرونئید می باشد (۴،۳) اپاندیموسیت ها سلول های کم تمایز با قابلیت تقسیم می باشند به همراه سلول های خونی فراوان و شبکه عروقی، سد خونی مغز را تشکیل می دهند همچنین سلول های اپاندیم در آسیب های نخایی نقش سلول های بنیادی را دارند (۶،۵) مطالعات میکروسکوپی نشان داده است که ساختمان شبکه کرونئید در پستانداران تکامل زیادی پیدا کرده است از جمله وجود پرزهای فراوان روی سلول های اپیتالی (اپاندیموسیت) که موجب افزایش سطح جذب و دفع می شود همچنین مشتقات عروق خونی حاصل از نرم شامه سبب رگ دار شدن شبکه کرونئید شده است بطوری که خون رسانی در شبکه کرونئید رت ها ۱۰ برابر بیشتر از خون رسانی قشر مخ است (۵،۷) هر گونه اختلال در سلول های شبکه کرونئید بصورت کاهش یا افزایش ترشح مایع مغزی نخایی موجب ناهنجاری دستگاه عصبی می شود (۸) مورفین با اثر بر گیرنده های اپیوئیدی مو، کاپا و دلتا اثرات خود را ظاهر می کند فعال شدن این گیرنده ها منجر به کاهش آدنوزین منوفسفات حلقوی و افزایش خروج یون پتاسیم و کاهش ورود یون کلسیم به سلول می شود (۹)

علوم پزشکی بقیه‌الله نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار گرفت. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی که مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله بود هنگام کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

در این مطالعه سولفات مورفین تهیه شده از شرکت تماد ایران به صورت خوراکی استفاده گردید. کل موش‌های مورد استفاده ۲۴ سر بود که به منظور بدست آوردن جنین‌های ۱۴ روزه و ۱۷ روزه به دو گروه ۱۲ تایی تقسیم شد که هر گروه از موش‌های ۱۲ تایی به دو گروه تقسیم شده و هر گروه شامل شش سر موش ($n=6$) بود. ۱۲ موش سالم ماده در گروه‌های دو تایی با یک موش نر بالغ جفت شدند و پس از حصول اطمینان از بارداری (با مشاهده تویی واژنی، وجود اسپرم در گسترش واژینال)، صبح روز بعد از موش‌های نر جدا شده و در همان گروه‌های دوتایی نگهداری شدند. از این زمان به بعد (روز صفر بارداری)، گروه‌های آزمایشی مقدار ۰/۰۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مورفین به صورت روزانه دریافت کردند (برای ۶ موش ۵ mg مورفین در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب شرب لوله کشی شهر). میزان مورفین مصرفی برای ۱۰ 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. در روز ۱۴ بارداری موش‌ها با کلرفرم کشته شده و جنین‌ها به همراه رحم و جفت از بدن موش‌های مادر خارج و به محلول فرمالین ۱۰ درصد برای مدت یک ماه انتقال یافت همچنین مراحل ذکر شده برای گروه دوم در روز ۱۷ بارداری صورت گرفت. پس از یک هفته محلول فرمالین جنین‌ها تعویض شد و پس از این مرحله، جنین‌ها از آندومتر رحم به همراه جفت جدا گردید و سپس جنین‌ها در دستگاه پردازش بافتی قرار گرفته و آماده قالب‌گیری شدند. برای قالب‌گیری جنین‌های ۱۷ روزه، سر جنین‌ها از تنه جدا شده و داخل پارافین قرار گرفت. سپس مراحل برش‌گیری از بلوک‌ها

توسط میکروتوم (ساخت FIST آلمان) انجام شد و برش‌هایی به صورت جبهه‌ای (Frontal) به ضخامت ۵ میکرومتر به صورت سریال تهیه گردید. برای قالب‌گیری جنین‌های ۱۴ روزه کل جنین داخل پارافین قرار گرفت برش‌هایی به صورت طولی به ضخامت ۵ میکرومتر به صورت سریال تهیه گردید این برش‌ها سپس روی لام‌ها قرار گرفته و به روش‌های هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) رنگ آمیزی شدند (۱۶). پس از رنگ‌آمیزی و آماده‌سازی، لام‌ها مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند برای تعیین تفاوت در دو گروه از نرم افزار موتیک استفاده شد (۱۲، ۱۳).

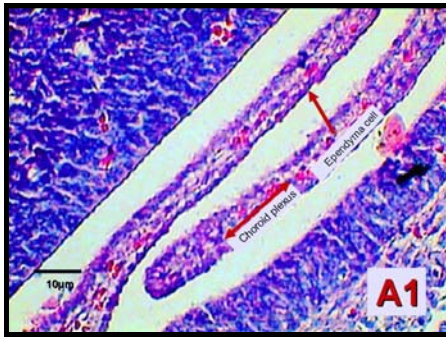
نتایج حاصل توسط نرم‌افزار کامپیوتری SPSS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و از آزمون آماری unpaired sample T-Test استفاده شد. در تمام موارد $p < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

اندازه مساحت سطح شبکه کروئید و تعداد سلول‌های شبکه کروئید در گروه‌های آزمایش و گروه‌های کنترل با نرم‌افزار موتیک اندازه‌گیری شد. دستگاه مورد استفاده شامل میکروسکوپی است که با یک رایانه و نمایشگر توسط یک نرم‌افزار ارتباط دارند. این نرم‌افزار علاوه بر این که امکان عکس‌برداری از لام‌ها را فراهم می‌آورد، توانائی اندازه‌گیری‌های مختلفی را هم دارد. تعداد سلول‌ها را در هر لایه شمارش کرده و تعداد آن‌ها در گروه‌های کنترل با گروه‌های آزمایش مورد مقایسه قرار گرفت.

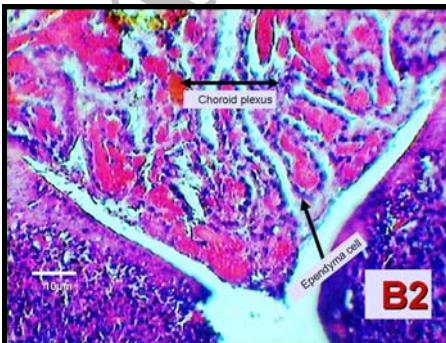
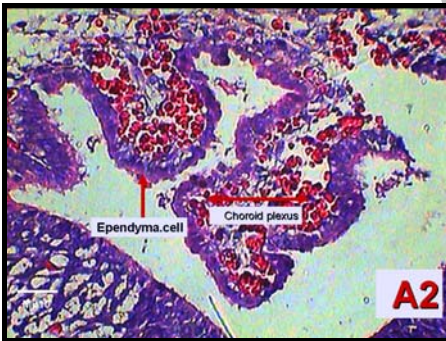
برای بررسی تعداد سلول‌ها از روش شمارش تصادفی (تعداد سلول‌ها در ۵ مربع 2×2 سانتی‌متری در یک مساحت 10×10 سانتی‌متری) در تصاویری با بزرگنمایی $400 \times$ استفاده شد به این منظور پس از تثبیت تصویر و مربع بزرگتر، تعداد سلول‌ها شمارش شد.

یافته‌ها

مادران باردار معنادار در هر گروه ۱۴ و ۱۷ روزه ۶ عدد بوده است و میانگین جنین آنها در هر گروه ۳۰ بوده است یافته‌های ما از این آزمایش نشان داد مصرف

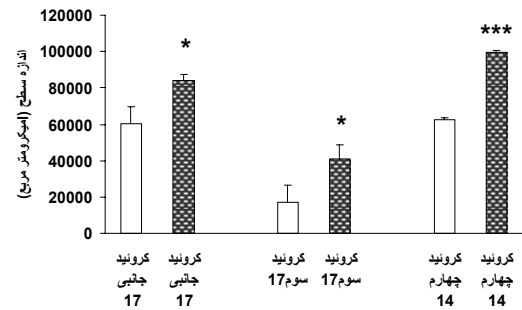


تصویر شماره ۱: تصاویر میکروسکوپی سلول های اپاندیم به همراه شبکه کرونئید بطن های جانبی در جنین های ۱۷ روزه، گروه کنترل (A1) گروه آزمایش (B1) با بزرگنمایی $\times 400$ با برش فرونتال

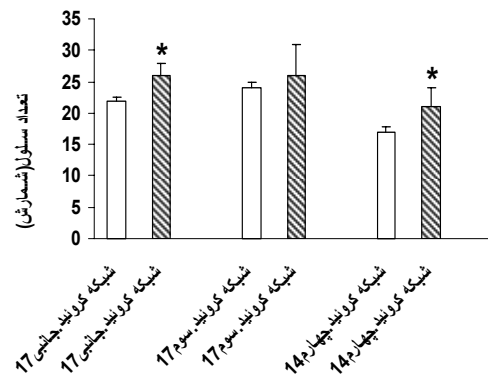


تصویر شماره ۲: تصاویر میکروسکوپی سلول های اپاندیم به همراه شبکه کرونئید بطن سوم در جنین های ۱۷ روزه گروه کنترل (A2) و آزمایش (B2) با بزرگنمایی $\times 400$ با برش فرونتال

مورفین خوراکی در مادران باردار معتاد سبب افزایش سطح شبکه کرونئید بطن های جانبی و سوم در جنین های ۱۷ روزه و شبکه کرونئید بطن چهارم در جنین های ۱۴ روزه در گروه تجربی نسبت به کنترل مشاهده شد (نمودار شماره ۱). همچنین افزایش تعداد سلول های اپاندیم بطن های جانبی در جنین ۱۷ روزه همچنین افزایش تعداد سلول های اپاندیم بطن چهارم در جنین های ۱۷ روزه در گروه تجربی نسبت به کنترل مشاهده شد (نمودار شماره ۲).

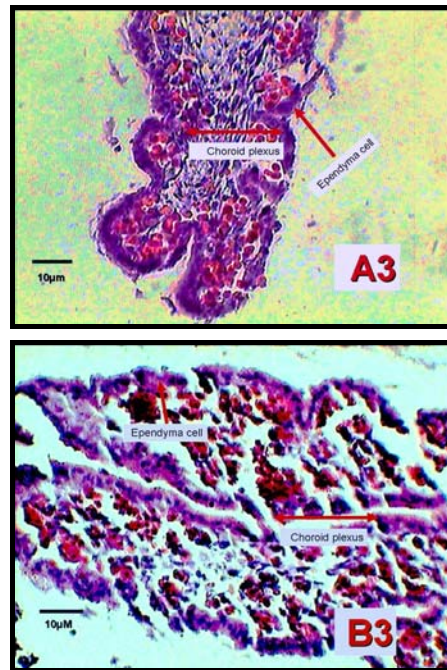


نمودار شماره ۱: اثر مصرف مورفین خوراکی بر تکوین شبکه کرونئید جنین موش های بارداری ۱۴ و ۱۷ روزه، از نظر اندازه سطح شبکه کرونئید بطن های مغزی (اطلاعات بصورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است. تعداد نمونه ها در هر گروه ۶ سر بود) $p < 0.05$ *



نمودار شماره ۲: اثر مصرف مورفین خوراکی بر تکوین سلول های شبکه کرونئید بطن های مغزی از نظر تعداد سلول ها (اطلاعات بصورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است. تعداد نمونه ها در هر گروه ۶ سر بود) $p < 0.05$ *

سم‌زدایی سلول‌های مغزی را عهده‌دار است و نیز عملکرد اصلی شبکه کروئید دفع، جذب و ترشح مایع مغزی نخایی (CSF) به بطن‌های مغزی می‌باشد و عمده این اعمال در سلول‌های اپاندیمی شبکه کروئید انجام می‌گیرد (۳،۵) هر نوع اختلال کاهش یا افزایش مایع مغزی نخایی توسط سلول‌های اپاندیم ایجاد ناهنجاری می‌کند از آن جمله می‌توان به هیدروسفالی در اثر افزایش ترشح CSF به بطن‌های مغزی که سبب بزرگ شدن بطن‌های مغزی و کاهش ضخامت قشر مغز می‌شود، اشاره کرد (۸) براساس مطالعات، اویپوئیدها در جفت، موجب تکثیر سلول‌های تروفوبلاست می‌شوند که وظیفه آنها سازگاری مادر جنین با رحم و پایداری بارداری می‌باشد (۱۷) از آنجایی که گیرنده‌های اویپوئیدی در غشا اندوتلیوم عروق خونی بیشتر است، احتمال اثر مورفین هم در بخش‌های پر عروق بیشتر خواهد بود (۱۵، ۱۸) تجویز مورفین باعث رها شدن هورمون‌های استرسی مانند کورتیکواسترون می‌گردد فعالیت کورتیکواسترون در معرض مورفین سبب افزایش فشارخون و پر خونی شبکه کروئید در رت می‌شود (۱۸، ۱۹) نتایج این تحقیق هم احتمالاً تاییدکننده مطالعات گذشته می‌باشد که مورفین با اثر بر گیرنده‌های اویپوئیدی روی غشا اندوتلیوم عروق خونی موجب تکثیر غیرطبیعی سلول‌های کم تمایز یافته می‌شود در واقع مورفین به عنوان محرک تقسیم سلولی سبب رشد و نمو غیرطبیعی سلول‌ها و در نتیجه موجب اختلال در عملکرد طبیعی سلول‌ها می‌شود (۲۰). پس می‌توان افزایش سطح شبکه کروئید را به مورفین نسبت داد که سبب تکثیر غیر طبیعی سلول‌های اپاندیم و گسترش غیر طبیعی سطح شبکه کروئید شده است (۲۱، ۲۰) در این مطالعه شبکه کروئید به ویژه در جنین‌های ۱۷ روزه پر خون می‌باشد احتمالاً اختلال در عملکرد ترشحی شبکه و انقباض عروق شبکه تحت تاثیر مورفین می‌باشد. بر اساس مطالعات قبلی، مورفین سبب کاهش سطح بطن‌های جانبی شده است (۱۳) در این مطالعه می‌توان پر خونی شبکه کروئید را به نقص



تصویر شماره ۳: تصاویر میکروسکوپی شبکه کروئید به همراه سلول‌های اپاندیم بطن چهارم در جنین‌های ۱۴ روزه گروه کنترل (A۳) و آزمایش (B3) با بزرگنمایی $\times 400$ با برش طولی

بحث

مشاهدات مورفولوژی و مورفومتریک این مطالعه نشان داد که مصرف مورفین خوراکی توسط مادر بارداری می‌تواند ناهنجاری‌های زیادی در جنین آنها ایجاد کند جنین‌های مربوط به مادران گروه آزمایش دارای سطح شبکه کروئید وسیعتر در بطن‌های جانبی و سوم در جنین‌های ۱۷ روزه و شبکه کروئید بطن چهارم وسیعتر در جنین‌های ۱۴ روزه نسبت به گروه کنترل نشان داد (نمودار شماره ۱). برای کاهش خطای آزمایش و تایید صحت یافته آزمایش، بررسی با دو نوع برش فرونتال و عرضی انجام شد. همچنین بررسی‌های مطالعه حاضر روی شبکه کروئید بطن‌های جانبی جنین‌های ۱۷ روزه و شبکه کروئید بطن چهارم جنین‌های ۱۴ روزه، افزایش تعداد سلول‌های اپاندیم را نشان داد (نمودار شماره ۲). همچنین انسجام بافتی در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود. از آنجایی که شبکه کروئید به‌عنوان منبع مواد مغذی مغزی، ترمیم سلول‌های مغزی،

سطح شبکه کرونئید خواهند داشت (۲۱،۲۰). یافته های حاصل از این تحقیق آن است که احتمالاً مورفین روی گیرنده های پروتئینی در غشا سلول های کم تمایز اپاندیما نشسته و سبب اختلال در عملکرد سلول ها و تاخیر در تکوین سلول های اپاندیما می شود (۱۷،۲۰) و به علت فراوانی گیرنده های اوپیوئیدی روی غشا اندوتلیوم عروق خونی، اثرات تخریبی مورفین روی شبکه کرونئید بیشتر است. همچنین اختلال در عملکرد ترشحی مایع مغزی- نخایی سلول های شبکه کرونئید سبب نقص در تکوین طبیعی سلول های عصبی می شود (۸،۲۳) تجویز مورفین موجب افزایش کورتیکواسترون نیز می شود لذا سوالی که در اینجا مطرح می شود این است که در این ناهنجاری ها اثر تخریبی مورفین بیشتر است یا کورتیکواسترون؟ با توجه به اینکه در بعضی موارد مورفین و کورتیکواسترون اثر هم را تقویت می کنند (۲۴،۲۵) یک نتیجه گیری کلی، از مطالعه حاضر آن است که مصرف مورفین خوراکی با گذشتن از سد خونی (۲۵) سبب نقص تکوین طبیعی سلول های اپاندیمی شبکه کرونئید و نتیجه آن ایجاد ناهنجاری دستگاه عصبی جنین مادران معتاد در جنین های گروه ۱۷ و ۱۴ روزه موش نژاد ویستار گردید. پس احتمال دارد در مورد انسان نیز صادق باشد. یعنی این که همین تاخیر شاید علت اختلالات رفتاری و حرکتی در نوزادان متولد شده یا منجر به سقط جنین و یا ناهنجاری های مادرزادی از مادران باردار معتاد باشد که شناخت این مسئله نیازمند مطالعات بیشتری می باشد.

سیاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) انجام گرفت. بدین وسیله از زحمات و همکاری این عزیزان قدردانی می شود. همچنین از زحمات و همکاری بی شائبه گروه علوم تشریح دانشگاه بقیه الله (عج) کمال تشکر را داریم.

عملکرد ترشحی سلول های اپاندیم نسبت داد که سبب کاهش مایع مغزی- نخایی و کاهش سطح بطن های مغزی می شود (عکس ناهنجاری هیدرو سفالی) (۱۳،۸). مورفین به دلیل اندازه کوچک مولکولی و نیز قابلیت حل شدن بالا در چربی، به راحتی از سد جفتی گذشته و به جنین می رسد از طرفی دیگر گیرنده های اوپیوئیدی نیز بر روی پرزها و عروق جفتی شناسائی شده اند (۲۱،۹)، تحریک این گیرنده ها توسط مورفین می تواند به بروز انقباض عروقی و کاهش خون رسانی به جنین منجر شود (۲۰،۱۸). مطالعات نشان داده اند که در دوره های بارداری غلظت کورتیکواسترون خون مادر باردار افزایش می یابد (۸) همچنین تجویز مورفین موجب افزایش غلظت کورتیکواسترون خون مادر باردار می شود (۲۲). محققان اعلام کرده اند افزایش گلوکوکورتیکوئیدها موجب تضعیف جفت و جنین می شود و این تضعیف به طور مستقیم با تغییر چرخه سلولی از فاز تکثیر به فاز تمایز رخ می دهد (۲۰،۱۹) همچنین اوپیوئیدها و کورتیکواسترون موجب تکثیر سلول های سیتوتروفوبلاست می شوند (۲۳،۱۹،۱۵) مواد اوپیوئیدی و کورتیکواسترون در کنار هم عملکرد فیزیولوژی هم را تقویت می کنند (۲۴،۲۵) سلول های اپاندیما، کم تمایز و توان تقسیم بالا را دارند و نقش مهمی در تولید مایع مغزی نخایی ایفا می کنند (۶،۵). تعداد سلول های اپاندیما بویژه در شبکه کرونئید بطن های جانبی و بطن چهارم جنین های گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد که این افزایش سلولی را می توان به اثر القایی مورفین بر تکثیر سلولی نسبت داد (۲۰،۲۱) همچنین افزایش سطح شبکه کرونئید در بطن های جانبی و بطن سوم و چهارم در جنین های گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل قابل توجه بود که این تغییر را می توان به اثر القای مورفین بر کاهش مرحله اینترفاز و تکثیر غیر طبیعی سلول های اپاندیما نسبت داد که در این صورت سلول ها در گروه آزمایش تکثیر غیر طبیعی و نتیجه تقسیم غیر طبیعی و افزایش غیر طبیعی

References

1. Ornoy A, Michailovskaya V, Lukashov I. The developmental outcome of children born to heroin-dependent mothers. Raised at home or adapted. *Child Abuse Negl* 1996; 20: 385-396.
2. Wilson JT, Chritie MJ, Manzoni O. Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. *Physiol Rev* 2001; 81: 299-343.
3. Janina Skipor J, Thierry JC. The choroid plexus. cerebrospinal fluid system: Undervalued pathway of neuroendocrine signaling into the brain. *Acta Neurobiol* 2008; 68: 414-428.
4. Cesario V, Borlongan Stephen J M, Skinner A V, Robert BE. The Choroid Plexus and. *Neuroscience* 2007; 59: 745-757.
5. Uemura H, Asai Nozaki M, Kobayashi H. Ependymal absorption of luteinizing hormone-releasing hormone injected into the third ventricle of the rat. *J Physiol Pharmacol* 2004; 81: 299-343.
6. Victoria MM, Francisco JR, Mireia G, Sergio L, Slaven E, Maria T C, et al. Activated Spinal Cord Ependymal Stem Cells Rescue Neurological Function. *Stem Cells* 2008; 27(3): 733-743.
7. Agnati LF, Zoli M, Stromberg I, Fuxe K. Intercellular communication in the brain: wiring versus volume transmission. *Neuroscience* 1995; 69: 711-717.
8. Thomas SW. Central Neuron System. Shacor, M, chehreh A. Langman Medical Embryology. 9 ed, Tehran: Chehreh; 2004. P 463-517.
9. Leslie FM, Chen Y, Winzer-Serhan UH. Opioid receptor and peptide mRNA expression in proliferative zones of fetal central nervous system. *Can J Physiol Pharmacol* 1998; 76: 248-293.
10. Behravan J, Pidurette-Miller M. Drug transport across the placenta, role of 1 the ABC drug efflux transporters. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2007; 3(6): 819-830.
11. 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: 12-17.
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; 99: 23-33.
13. Kazemi M, Azarnia M, Sahraei H, Bahadoran H, Saeidabadi S. Oral morphine consumption delayed lateral ventricles and chroid plexus in Wistar rat embryos. *Kowsar Medical Journal* 2009; 14(2): 77-82.
14. Kazemi M, Azarnia M, Sahraei H. Effect of oral morphine on the development of placenta in Wistar rat. *Developmental Biology* 2009; 1(2): 35-40.
15. Fowden AL, Forhead AJ, Coan PM, Burton GJ. The placenta and intrauterine programming. *J Neuroendocrinol* 2008; 20(4): 439-450.
16. Wilson I, Gamble M. The hematoxylin and eosin. In: J.D Bancroft and M. Gamble(Eds.), *Theory and practice of histological techniques*, 5th Edition, London: Churchill Livingstone; 2002. P 125-138.
17. Dwaine F, Emerich I, Stephen J M, Skinner C V, Borlongan AV, Vasconcellos C G. The choroid plexus in the rise, fall and repair of the brain. *Bioesseys* 2005; 27(3): 262-274.
18. Collins LR, Hall RW, Dajani NK, Wendel PJ, Lowery CL, Kay HH. Prolonged morphine exposure in utero causes fetal and placental vasoconstriction: a case report. *J Matern*

- Fetal Neonatal Med 2005; 17(6): 417-421.
19. Lindvall-Axelsson M, Hedner P, Owman C. Corticosteroid action on choroid plexus: Reduction in Na⁺—K⁺-ATPase activity, choline transport capacity, and rate of CSF formation. *Exp Brain Res* 1989; 77(3): 605-610.
 20. Fabian G, Bozo B, Szikszay M, Horvath G, Coscta C J, Szucs M. Chronic Morphine-Induced Changes in μ -Opioid Receptors and G Proteins of Different Subcellular Loci in Rat. *Brain J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302(2): 774-780.
 21. Ward J W, Wooding F B P, Fowden A L. The effect of cortisol on the binucleate cell population in the ovine placenta during late gestation. *Placenta* 2002; 23: 451-458.
 22. Ramazany M, Tekyeh E, Zardooz H, Bahadoran H, Sahraei H. Oral morphine consumption delayed fovea development in the Wistar rat embryo eyes. *The Journal of Physiology and Pharmacology* 2009; 13(3): 271-278 (Persian).
 23. Fürs S, Hosztaf I. The chemical and pharmacological importance of morphine analogues. *Acta Physiologica Hungarica*. 2008; 44: 1588-2683.
 24. Nock B, Cicero TJ, Wich M. Chronic Exposure to Morphine Decreases Physiologically Active Corticosterone in Both Male and Female Rats but by Different Mechanisms. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 286(2): 875-882.
 25. Yousif S, Saubaméa B, Cisternino S, Marie-Claire C, Dauchy SX. Effect of chronic exposure to morphine on the rat blood-brain barrier: focus on the P-glycoprotein. *J Neurochem* 2008; 107(3): 647-657.