فصلنامه

زیست شناسی تکوینی

سال اول، شماره ۳، تابستان ۱۳۸۸

مصرف خوراکی مورفین در زمان بارداری و تکامل عدسی در جنین های موش بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار

الهه تکیه*[۱]، هدایت صحرایی[۱]، مینا رمضانی[۲]، حسین بهادران[۳]، معصومه کاظمی[۱]

۱- مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) (عهده دار مکاتبات) e_tekieh@yahoo.com

۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آشتیان

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

چکیده

عدسی را می توان مهمترین ساختار سیستم بینایی در تنظیم نور ورودی به شبکیه به حساب آورد. ایجاد هرگونه نقص یا تاخیر در تکامل عدسی منجر به ایجاد نقص در عملکرد سیستم بینایی می شود. در این مطالعه تغییرات ایجاد شده بوسیله مورفین درناحیه عدسی چشم جنین هایی که مادران آنها در طول دوران بارداری مورفین مصرف کرده بودند مورد بررسی قرار گرفت.

در این آزمایش موش های ماده بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم استفاده شدند، پس از حصول اطمینان از بارداری به دو گروه آزمایش و شاهد تقسیم شدند. گروه شاهد در طول آزمایش با آب شرب شهری و گروه آزمایش آب حاوی مورفین (۰/۰۵ mg/ml) محلول در آب تیمار شدند. در روز ۱۳ بارداری از گوشه چشم همه موش ها خون گیری به عمل آمد. در روز ۱۷ بارداری موش ها با کلروفرم کشته و جنین ها از بدن خارج شدند. جنین ها به مدت یک ماه در محلول فرمالین ۱۰٪ فیکس شدند. سرجنین ها جدا و مراحل پردازش بافتی، برش گیری و رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین – ائوزین انجام شد. و ناحیه عدسی آنها بوسیله میکروسکوپ نوری و نرم افزار موتیک مورد بررسی قرار گرفتند.

سطوح کورتیکوستروون در موش های ماده باردار در گروه آزمایش در مقایسه با گروه شاهد افزایش قابل ملاحظه ای داشت. همچنین قطر عدسی در گروه آزمایش کاهش معنی داری را نشان داد. تکثیر سلول های عدسی در گروه آزمایش افزایش یافته ولی مهاجرت آنها دچار تاخیر شده است.

این مطالعه نشان داد که مصرف مورفین در زمان بارداری منجر به ایجاد نقص در تکامل سیستم بینایی جنین بویژه در قسمت عدسی می شود

واژه های کلیدی: مورفین، کورتیکوسترون، سیستم بینایی، عدسی، موش بزرگ آزمایشگاهی

مقدمه

سیستم بینایی ساختاری است پیچیده، متشکل از چندین بافت و قسمت متنوع با منشا جنینی متفاوت. دو ساختار اصلی و بسیار مهم سیستم بینایی شامل عدسی و شبکیه است [۱]. عدسی نقش بسیار مهمی در شکل گیری صحیح تصویر دارد به این علت که باعث فوکوس نور

Archive of SID

www.SID.ir

وارده به چشم برروی شبکیه می شود و ایجاد هرگونه نقص در تکامل عدسی منجر به ایجاد نقص کلی در سیستم بینایی می شود. ایجاد اختلال در تکوین سیستم بینایی می تواند حیات موجود را به خطر اندازد به این دلیل که مهمترین عامل برفراری ارتباط موجودات زنده با محیط اطراف است [۲].

مصرف مواد آسیب رسان خارجی در زمان بارداری باعث ایجاد اختلال در تکوین سیستم های مختلف جنین از جمله سیستم بینایی می شود. یکی از مواد آسیب رسان خارجی که می تواند از سد جفتی عبور کرده و به جنین برسد مورفین است . مورفین به دلیل کوچک بودن و لیپوفیل بودن مولکول آن به راحتی از سد جفتی عبور کرده و برروی سلول های جنین اثر می گذارد[۳]. آزمایشات قبلی اثرات بسیار مخرب مورفین را برروی تکامل لوله عصبی [۴] ، صفحه عصبی [۵] ،و قشر مخ [۶] ثابت کرده اند، اولین مرحله تکوین سیستم بینایی از برآمدگی ناحیه دین سفال مغز پیشین آغاز می شود (در نتیجه سیستم بینایی را می توان قسمتی از سیستم عصبی مرکزی به حساب آورد) [۷].

مورفین برروی اکثر سلول های جنین بویژه سلول های عصبی مرکزی دارای گیرنده های اوپیوئیدی است و با اثر بر این گیرنده ها نقش خود را ایفا می کند. مورفین همچنین دارای گیرنده های ویژه برروی هیپوتالاموس و کورتکس آدرنال است که با اثر بر این گیرنده ها باعث افزایش ترشح هورمون کورتیکوسترون می شود [۸]. کورتیکوسترون دارای اثرات بسیار گسترده ای در تکوین، تکثیر و مهاجرت سلول ها است [۹]، کورتیکوسترون به دلیل اثر برروی گیرنده های هسته ای ویژه شامل GR و MR به طور مستقیم بر بیان ژن ها در سلول های هدف اثر می گذارد [۱۰]. هرگونه افزایش در میزان سطوح کورتیکوسترون پلاسما به یک افزایش چندین برابر در سطوح کورتیکوسترون پلاسمای جنین منجر می شود. ترشح بیش از حد کورتیکوسترون باعث تکثیر بیش از حد سلول ها و به تاخیر افتادن مهاجرت آنها می شود [۱۱].

قدم اول تشکیل عدسی در اثر ضخیم شدن اکتودرم سطحی که توسط حباب بینایی القا شده است ایجاد می شود، در مرحله بعدی سلول های عدسی شروع به تمایز می کنند به این صورت که سلول های کنار عدسی تکثیر شده ، کشیده و فیبری شکل شده و به سمت مرکز مهاجرت می کنند. سپس سلول ها ، پروتئینی به نام کریستالین را ترشح میکنند که باعث بیرون راندن هسته از سلول و شفاف شدن آنها می شود. این تمایز در عملکرد عدسی اهمیت بسیار زیادی دارد و ایجاد هرگونه نقص یا تاخیر در انجام این مراحل منجر به ایجاد اختلال در عملکرد سیستم بینایی می شود[۱۲].

در شکل گیری سیستم بینایی بیان صحیح ژن های موثر اهمیت بسیار ویژه ای دارد ، ژن هایی که در شکل گیری سیستم بینایی نقش دارند شامل: RX, SIX_3 , Lhx_2, Otx_2 و Pax_6 هستند. بیان صحیح ژن Pax_6 در شکل گیری عدسی و شبکیه اهمیت بسیار ویژه ای دارد و موش های موتانت این ژن فاقد عدسی هستند. بنابراین ایجاد اختلال در بیان ژن ها می تواند منجر به ایجاد اختلال در شکل گیری و تکامل سیستم بینایی شود[۱].

مواد و روش ها:

در این آزمایش ۲۰ سر موش ماده بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار(با میانگین وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم، خریداری شده از انسیتو پاستور ایران) مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات در درجه حرارت محیط (۱±۲۴ درجه سانتیگراد) با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. بعد از ۲۴ ساعت ازجفت شدن حیوانات با موشهای نر و حصول اطمینان از بارداری (مشاهده اسپرم در گسترش واژنی، به روش واژینال اسمیر)، موش‌های نر جدا شده و روز صفر بارداری (روز صفر جنینی-E0) تعیین شد. سپس موش های باردار به دو گروه شاهد و آزمایش تقسیم شدند. گروه شاهد در مدت تیمار آب شرب شهری و گروه آزمایش آب شرب شهری حاوی مورفین (۰/۰۵mg/kg) دریافت کردند.

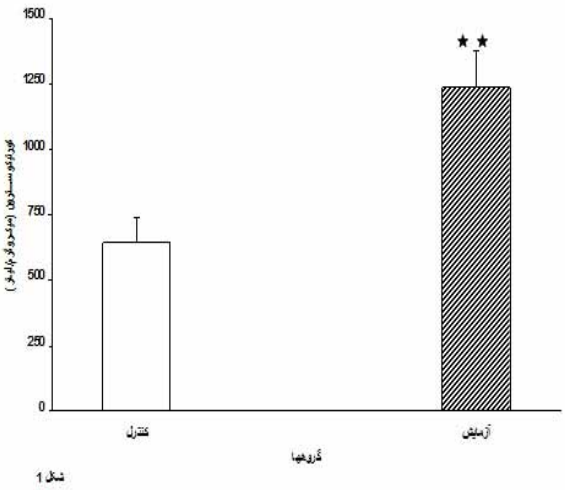
در روز ۱۳ بارداری (E13) از گوشه چشم (Retro-orbital Sinus) موش‌های هر دو گروه خونگیری به عمل آمد. نمونه های خون در لوله‌های اپندورف حاوی سیترات سدیم ۵٪ جمع آوری شد. نمونه‌های خون سانتریفیوژ شده و پلاسمای جدا شده در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شده و بوسیله ی کیت الایزای کورتیکوسترون، میزان سطح هورمون کورتیکوسترون پلاسما هردو گروه تعیین شد.

Archive of SID

www.SID.ir

در روز ۱۷ بارداری موش‌ها با استفاده از دوز بالای کلروفرم 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. (یک هفته به همراه رحم سپس از رحم جدا ودوباره درون محلول قرار گرفتند).

سر جنین‌ها جدا و پس از گذراندن مرحله پردازش بافتی و تهیه برش‌هائی با ضخامت ۵ میکرون به روش هماتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده بوسیله‌ی میکروسکوپ نوری متصل به رایانه و نرم افزار موتیک مورد بررسی قرار گرفتند. برای محاسبات آماری از آزمون تی غیر مزدوج (Un-paired t-test) استفاده شد. اطلاعات بصورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند. $P<0/01$ سطح معنی دار بدون اختلافات در نظر گرفته شد.



شکل ۱: تاثیر تجویز خوراکی مورفین بر غلظت کورتیکوسترون پلاسما در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده باردار. خونگیری از گوشه چشم حیوانات در روز ۱۳ جنینی به روشی که در متن گفته شده است انجام شد. همانظور که در شکل پیداست تجویز مورفین خوراکی باعث افزایش غلظت کورتیکوسترون پلاسما در گروه آزمایش شده است (P<./۰۱).**

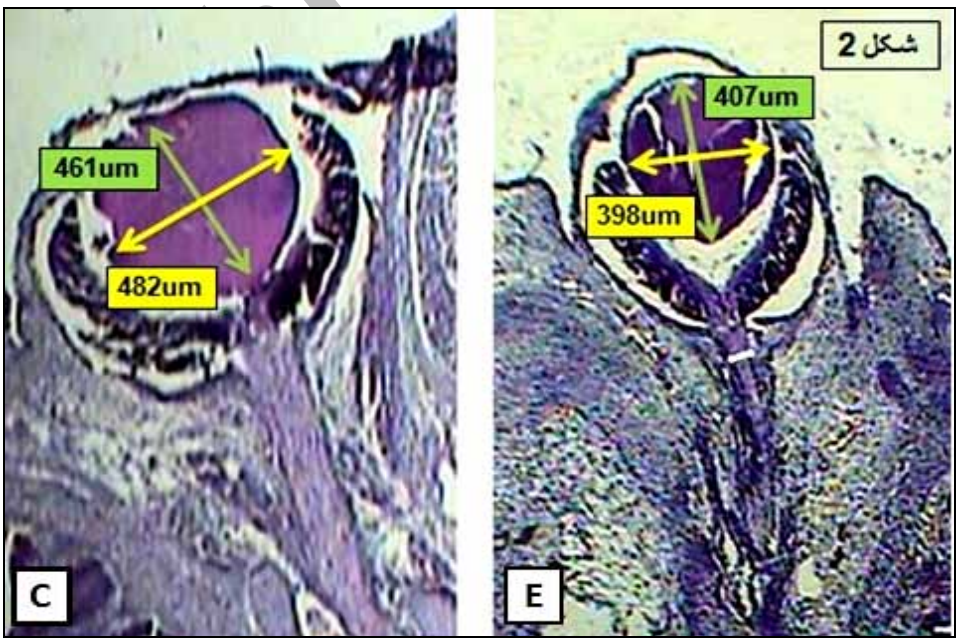
نتایج

بررسی اثر مصرف خوراکی مورفین در زمان بارداری بر هورمون کورتیکوسترون موش های ماده باردار اندازه‌گیری سطح کورتیکوسترون پلاسما در گروه آزمایش در مقایسه با گروه شاهد نشان دهنده افزایش قابل ملاحظه غلظت کورتیکوسترون در گروه آزمایش بود که این افزایش از نظر آماری کاملا معنی دار می باشد ($P<0.01$) و (شکل ۱).

بررسی اثر تجویز خوراکی مورفین بر تغییرات مورفولوژیک عدسی

۱- بررسی ماکروسکوپی

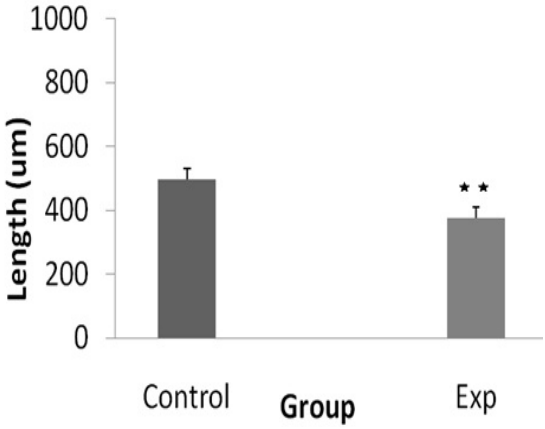
اندازه کلی و ضخامت عدسی در گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنا داری را نشان می دهد (شکل ۲ و ۳).



شکل۲: برش عرضی از ناحیه چشم جنین ۱۷روزه موش بزرگ آزمایشگاهی ، ناحیه عدسی با پیکان نشان داده شده است. تصویر C نشان دهنده چشم جنین گروه شاهد و تصویر E چشم جنین گروه آزمایش است . کاهش قطر ناحیه عدسی در گروه آزمایش به خوبی مشخص است. (بزرگنمایی ۴×).

www.SID.ir

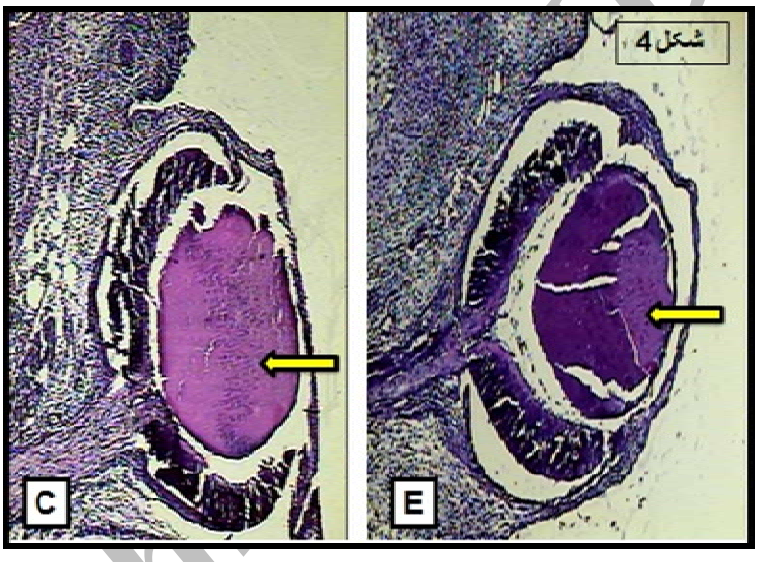
تحقیق، باعث کاهش معنی دار ضخامت عدسی در گروه آزمایش در مقایسه با گروه شاهد شده است. (**P<./۰۱).



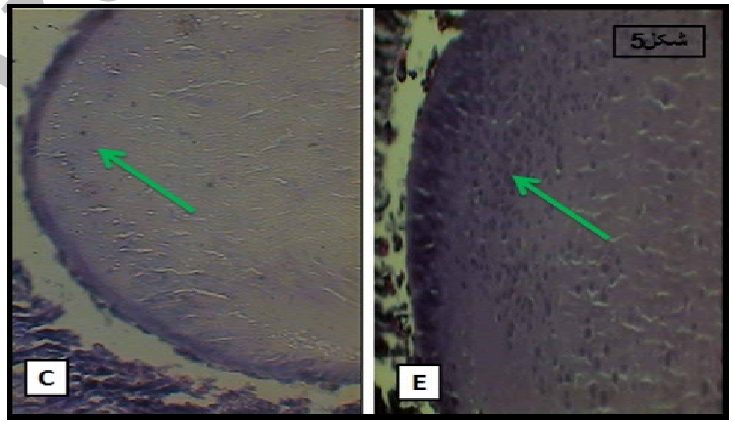
شکل ۳: نمودار ضخامت عدسی در گروه کنترل و آزمایش. همچنانکه در شکل پیداست، تجویز مورفین خوراکی با دوز مورد استفاده در این

۲- بررسی میکروسکوپی

در مطالعه میکروسکوپی به نظر می رسد که تعداد سلول های عدسی در گروه آزمایش در مقایسه با گروه شاهد بیشتر است ولی از نظر اندازه کوچکتر از سلول های گروه شاهد بود. مهاجرت سلول های عدسی در گروه آزمایش در مقایسه با گروه شاهد کاملا دچار تاخیر شده و تجمع غیر طبیعی سلول ها در کناره های عدسی مشاهده می شود(شکل۴ و ۵).



شکل۴: برش عرضی از ناحیه چشم جنین ۱۷روزه موش بزرگ آزمایشگاهی . C: گروه شاهد، E: گروه آزمایش. سلول های ناحیه عدسی (باپیکان نشان داده شده اند). مهاجرت سلول ها به سمت مرکزدر گروه شاهد به طور نرمال انجام شده است. ولی در گروه آزمایش از نظر زمانی به تاخیر افتاده است. (بزرگنمایی ۱۰×).



شکل ۵: تصویر برش عرضی از ناحیه عدسی.C: گروه شاهد،E: گروه آزمایش. تراکم بیش از حد سلول ها در گروه آزمایش قابل مشاهده است (بزرگنمایی ۴۰×).

Archive of SID

www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری:

آزمایش انجام شده نشان داد که مصرف خوراکی مورفین در زمان بارداری باعث ایجاد تاخیر و نقص در تکامل سیستم بینایی بویژه عدسی چنین موش های بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار می شود، همچنین مطالعه نتایج حاصل ثابت کرد که مورفین باعث افزایش سطوح کورتیکوسترون پلاسما می شود که می تواند یکی از مکانیسم های اثر مورفین برروی جنین باشد.

مورفین به دلیل کوچک بودن مولکول آن می تواند به راحتی از سد جفتی عبور کند و به سلول‌های جنین برسد. مورفین برروی بیشتر سلول های جنین بویژه سلول های سیستم عصبی مرکزی دارای گیرنده های ویژه ای به نام گیرنده های اوپیوئیدی است و با اثر برروی این گیرنده ها باعث ایجاد تغییرات بسیار زیادی در سلول بویژه تغییر در کانال‌های کلسیمی سلول می‌شود و منجر به ایجاد تاخیر و نقص در تکوین سلول‌های هدف می‌شود[۱۳]. گیرنده‌های اوپیوئیدی دارای انواع متعددی هستند که گسترش بسیار زیادی در سراسر بدن دارند، مهمترین گیرنده های اوپیوئیدی شامل گیرنده های مو، دلتا و کاپا می باشند [۱۴].

بررسی نتایج بدست آمده ثابت کرد که مصرف خوراکی مورفین در زمان بارداری باعث افزایش غیر طبیعی هورمون کورتیکوسترون در پلاسمای بدن مادر می شود [۱۴]، در آزمایشات گذشته اثبات شده است که هرگونه افزایش در میزان سطوح کورتیکوسترون پلاسمای مادر به یک افزایش چند برابر در سطوح کورتیکوسترون بدن جنین منجر می شود. هورمون CRH (corticotropin releasing hormone) که در شرایط غیر بارداری فقط از هیپوتالاموس آزاد می شود، در زمان بارداری علاوه بر هیپوتالاموس از جفت نیز آزاد می شود که به آن PCRH گفته می شود. این هورمون جفتی هم به بدن مادر ترشح می شود و هم به بدن جنین، در بدن جنین دارای همان عملکرد هورمون هیپوتالاموسی است و باعث افزایش ترشح مضاعف هورمون کورتیکوسترون می شود [۱۱]. هورمون کورتیکوسترون گلوکوکورتیکوئید مهم در جوندگان است که برای حفظ هموستاز در شرایط استرس و بی غذایی نقش اساسی را ایفا می کند. همچنین هورمون کورتیکوسترون به دلیل اثر برروی دو نوع گیرنده هسته ای GRوMR به طور مستقیم برروی بیان ژن های سلول های هدف اثر می گذارد[۱۰].

سیستم بینایی یک ساختار بسیار پیچیده است که از بافت ها و ساختارهای متنوعی با منشا جنینی متفاوت تشکیل شده است. در شکل گیری سیستم بینایی عوامل بسیار زیادی موثر هستند مهمترین آنها شامل بیان صحیح ژن های موثر و برقراری القاها و ارتباطات متنوع در بین قسمت های مختلف است. بیان صحیح ژن ها در شکل گیری سیستم بینایی نقش بسیار اساسی را ایفا می کند، که در این میان ژن Pax_6 را می توان مهمترین ژن موثر درتکوین عدسی دانست،.در بسیاری از آزمایشات ثابت شده است که موش های موتانت های این ژن دچار اختلالات بسیار زیادی در تکوین و تمایز عدسی هستند و در بعضی موارد به طور کلی فاقد عدسی هستند[۱۵و ۱۶].

مورفین علاوه بر سلول های جنین برروی جفت نیز دارای گیرنده های اوپیوئیدی ویژه ای ا ست که با اثر برروی این گیرنده ها باعث انقباض عروق جفتی می شود.اولین پیامد انقباض عروق جفتی کاهش خون رسانی به جنین و در نتیجه کاهش اکسیژن و مواد غذایی مورد نیاز سلول های جنین است که باعث ایجاد نقص و تاخیر در تکامل سیستم های مختلف جنین می شود. انقباض عروق جفتی همچنین باعث ایجاد نوعی استرس درون رحم و جفت می شود که این استرس باعث افزایش ترشح هورمون کورتیکوسترون که مربوط به شرایط استرس است می شود. مورفین همچنین برروی هیپوتالاموس و کورتکس آدرنال دارای گیرنده های اوپیوئیدی است که با اثر برروی این گیرنده ها به دوصورت مرکزی و محیطی باعث افزایش هورمون کورتیکوسترون می شود[۱۷].

علاوه بر وجود گیرنده های اختصاصی اوپیوئیدها نوع دیگری از گیرنده برروی کورتکس آدرنال وجود دارد که دارای یک نقش احتمالی در میانجی گری اثر مورفین در تحریک تولید و ترشح کورتیکوسترون ازغده آدرنال است، گیرنده NMDA گلوتامات که وجود آن برروی غده آدرنال در چندین آزمایش به اثبات رسیده است به طور غیر مستقیم به وسیله ی مورفین تحریک شده و باعث ترشح کورتیکوسترون می شود[۱۸]. کورتیکوسترون دارای اثرات بسیار گسترده‌ای بر تکوین، تکثیر و مهاجرت سلول‌هاست. کورتیکوسترون باعث تکثیر بیش از حد

Archive of SID

www.SID.ir

سلول‌ها و اختلال در رشد آنها می‌شود، همچنین این هورمون باعث به تاخیر افتادن مهاجرت سلول‌ها در طی تکامل جنین می‌شود[۱۹]. در تحقیق حاضر نیز احتمال اینکه کورتیکوسترون باعث بروز تغییرات دیده شده در عدسی 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 قرار دهد. یکی از مهمترین این ژن‌ها که در تکامل شبکیه و عدسی نقش اساسی را ایفا می‌کند، ژن PAX_6 است که هر گونه تغییر در بیان آن می‌تواند باعث اختلال در تکامل سیستم بینایی شود[۱۵]. ممکن است کورتیکوسترون با اثر بر بیان این ژن و تغییر بیان آن درسلول های عدسی ، اثر خود را بر تکوین ناقص عدسی القاء کرده باشد.البته اثبات این فرضیه نیازمند تحقیقات بیشتری می باشد که در آینده بایستی انجام شود.

در تحقیقات قبلی مشخص شده است که مصرف خوراکی مورفین تکوین عقده‌های قاعده‌ای را در روزهای ۱۲، ۱۴ و ۱۷ به تاخیر می‌اندازد [۲۰] و همچنین باعث ایجاد نقص و تاخیر هم از نظر زمانی و هم از نظر ساختار بافتی در صفحه عصبی و لوله عصبی می شود[۴ و ۵]. تکامل اولیه سیستم بینایی به ویژه شبکیه از سیستم عصبی مرکزی (ناحیه دیانسفال) آغاز می شود حباب بینایی تشکیل شده از ناحیه دین سفال باعث القا اکتودرم سطحی وتبدیل آن به پلاکود عدسی می شود. بنابراین تکامل صحیح عدسی به تکامل صحیح لوله عصبی وابسته است و ایجاد نقص و تاخیر در تکامل صفحه عصبی و لوله عصبی می تواند به ایجاد نقص در تکامل سیستم بینایی بویژه عدسی منجر شود [۲۱].

آزمایش حاصل نشان داد که مصرف خوراکی مورفین در زمان بارداری باعث ایجاد تاخیر و نقص در تکامل سیستم بینایی بویژه عدسی می شود و مورفین این اثرات را می تواند بوسیله ی چندین مکانیسم اعمال کند که شناخت همه این مکانیسم ها به تحقیقات بیشتری نیاز دارد.

منابع:

1- Rossant G, Patrick P.L.Tam. Mous development, Patterning, Morphogenesis, and organogenesis. 520-538. (2002).
2- Sefton A. J., Dreher B., Harvey A., Visual System. In: G. Paxinos (Editor), The Rat Nervous System, Academic Press, Sydney; 1083-1163.(1995).
3- Kopcky EA, Simone C, Knie B, Koren G. Transfer of morphine across the human placenta and its interaction with naloxone. Life Science 65:2359-71.(1999).
4- Nasiraei-Moghadam S, Sahraei H, Bahadoran H, Sadooghi M, Salimi SH, Kaka GR, Imani H, Mahdavi-Nasab H, Dashtnavard H. Effects of maternal oral morphine consumption on neural tube development in Wistar rats. Developmental Brain Research 159: 12-17. (2005).
5- 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 12 :314-19. (2009).
6- Sadraie SH, Kaka GR, Sahraei H, Dashtnavard H, Bahadoran H, Mofid M, Mahdavi-Nasab H, Jafari F. Effects of maternal oral administration of morphine Sulfate on developing rat fetal cerebrum: a morphometrical evaluation. Brain Research 1245: 36-40. (2008).
7- Fischbach KF, Hiesinger PR.Optic lobe development. Adv Exp Med Biol.628: 115-36. .(2008).
8- 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 144: 503-510. (1995).
9- Kawata, M., Nishi, M., Matsuda, K., Sakamota, H., Kaku, N., Tokita Masugi, Fujikawa, K., Wara Hirahara, Takanami,K., and Mori, H. Steroid receptor signaling in the

Archive of SID

www.SID.ir

brain- lessons learned from molecular imaging, J. Neuroendocrinology .20: 673-676. (2008).

10- Derijik, R. H., Ron de Kloet ,E. Corticosteroid receptor polymorphism: Determinants of vulnerability and resilience. European Journal of pharmacology. 583: 303-311. (2007).

11- Mulder E.J.H., Robles de Medina P.G., Huizink A.C., Van den Bergh B.R.H., Buitelaar G.K. Prenatal maternal stress: effects on pregnancy and the (unborn) child. Early human development,70: 3-14. (2002).

12- Gilbert Scott S.The central nervous system and cell-cell communication in development.in: Gilbert SS, Editor. Developmental biology. Massachusetts: Sinauer Associates Inc .143-148. (2000).

13- Seward E. Mu opioid receptors as regulators of the N-type calcium channel current. Proc.R.Soc. Land B., 244: 129-135. (1991).

14- Pascoe John E, Wiliams Keith L, Mukhopadhyay Partha, Rice Kenner, Woods James H, Ko Mei-Chuan. Effects of mu, kappa and delta opioid receptor agonist on the function of hypothalamic-pituitary-adrenal axis in monkeys. Psychoneuroendocrinoology. 33(4): 478-486. (2008).

15- Kozmik Z. The role of pax6 genes in eye evolution. Brain Res Bull. 75(2-4): 335-9. (2008).

16- Wolf Louise V, Yang Ying, Wang Jinhua, Xie Qing, Brounger Barbara, Tam E.R., Zavadil Jiri. Identification of pax6-dependent Gene regulatory networks in the mouse lens. Plos one. 4(1):e4159.(2009).

17- Ahmed MS, Schoof T, Zhou DH, Quarles C. Kappa opioid receptors of human placental villi modulate acetylcholine release. Life sci 45: 2383-93. (1989).

18- Degli Uberti EC., Petraglia F., Bondanelli M., Guo AL., Valentini A., Salvadori S., Criscuolo M., Nappi RE., Genazzani AR. Involvement of mu-opioid in the modulation of pituitary-adrenal axis in normal and stressed rats. G Endocrinol Invest. 18(1): 1-7. (1995).

19- Van den Bergh BRH, Mulder EJH, Mennes M, Glover V. Antenatal maternal anxiety and stress and the neurobehavioural development of the fetus and child: links and possible mechanism, a review. Neuroscience and Biobehavioral Review. 29: 237-258. (2005).

20- Meany MJ., Brake W, Gratton A. Environmental regulation of the development of mesolimbic dopamine systems: a neurobiological mechanism for vulnerability to drug abuse. Psychoneuroendocrinology 27: 127-138. (2002).

21- Greiling TM, Clark JI. The transparent lens and cornea in the mouse and zebra fish eye. Semin cell Dev Biol. 19(2):94-99.(2008).

Archive of SID

www.SID.ir