

بررسی اثر استرس دوران جنینی بر رفتارهای هیجانی، جستجوگری و ویژگیهای مورفولوژیک هیپوکامپ رت ویستار

علی مقیمی^۱، ناصر مهدوی شهری^۲، زهرا حق پیمای^۳، عادل حق نژاد^۴
نویسنده مسئول: علی مقیمی، گروه زیست شناسی - دانشکده علوم پایه - دانشگاه فردوسی مشهد،
ص پ: ۱۴۳۶-۹۱۷۷۵، تلفن: ۰۹۱۵۳۱۷۶۳۹۰، فاکس: ۰۵۱۱-۸۷۹۶۴۱۶، پست الکترونیک: moghimi@um.ac.ir

خلاصه:

مقدمه: با توجه به اینکه استرس در دوران جنینی اثرات گوناگونی بر فرآیندهای بیولوژیکی و بخشهای مختلف ساختارهای جنینی دارد و اختلالاتی را در رفتار اجتماعی و تنظیم محور HPA ایجاد می کند در این مقاله هدف بررسی اثرات استرس دوران جنینی بر ویژگی های مورفولوژیکی هیپوکامپ درنوزادی و بلوغ و تست رفتاری در محیط Openfield و Elevated Plus-maze در دوران بلوغ می باشد.

روش کار: رت های ماده حامله نژاد ویستار به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. نمونه های کنترل در شرایط بدون استرس نگه داری می شدند، ولی گروه تجربی از هفته دوم بارداری هر روز به مدت ۳ ساعت به وسیله Restrainer تحت استرس بی حرکتی قرار گرفتند. مطالعات رفتاری با استفاده از Open field (OF) و Elevated Plus Maze (EPM) انجام گرفت. مطالعات بافتی هیپوکامپ در اولین روز تولد با دو متد رنگ آمیزی گلژی و آبی تولوئیدین انجام شد.

نتایج: نتایج مطالعات رفتاری فرزندان که در سن ۲/۵ ماهگی بعمل آمد نشان داد که از نظر فعالیتهای حرکتی و شناختی و رفتار هیجانی در تعدادی از پارامترها اختلاف معنی داری وجود دارد بطوریکه در گروه تجربی میزان فعالیتهای حرکتی و شناختی کاهش و میزان اضطراب و هیجان نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. مطالعات بافت شناسی نشان داد که شکل یافتگی نورونهای هیپوکامپ به خصوص در ناحیه پیرامیدال به دنبال استرس جنینی در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل کمتری باشد. مطالعات بافتی هیپوکامپ فرزندان در ۲/۵ ماهگی کاهش میزان رشته های را که بین ناحیه پیرامیدال هیپوکامپ و ژيروس دندانیه ای وجود دارند را نشان می داد.

بحث و نتیجه گیری: با مطالعه این موارد و مقایسه آنها با مراحل مختلف تکامل سلولهای عصبی می توان فرضیه به تاخیر افتادن تکامل هیپوکامپ بدنبال استرس دوره جنینی را مطرح نمود که احتمالاً ناشی از تغییرات ایجاد شده در نوروترانسمیترهای موثر در تکامل سلولهای عصبی و کاهش میلینه شدن سلولهای عصبی و تغییرات ایجاد شده در میزان گلوکوکورتیکوئیدها می باشد که در تنظیم تکثیر نورونی و نیز رفتارهای هیجانی و جستجوگری موثر می باشند.

کلمات کلیدی: استرس دوران جنینی، Restrainer، هیپوکامپ، Open field، Elevated Plus-maze.

۱. دانشجویار فیزیولوژی (نوروفیزیولوژی)

۲. استاد هیستولوژی و سیتولوژی

۳. کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری و مربی دانشگاه فردوسی مشهد

۴. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری

مقدمه :

آنجا که هیپوکامپ یکی از عوامل تنظیم محور HPA می باشد استرس ایجاد شده با تغییر در حساسیت رسپتورها و میزان رسپتورها و همچنین اثر های نوروتوکسیک روی سلولهای هیپوکامپ باعث اختلال در تنظیم محور HPA نیز می گردد (۵ و ۶ و ۷ و ۸).

لذا با توجه به گسترش روز افزون استرسهای محیطی و تنش های ناشی از زندگی شهر نشینی، پژوهشی در خصوص تاثیرات این عوامل بر سازوکارهای فیزیولوژی ضروری به نظر می رسد. هدف از این تحقیق بیشتر در این راستا و به منظور بررسی اثرات استرس بی حرکتی مادران حامله بر ویژگی های رفتاری و سیتولوژیک مغز (هیپوکامپ) نوزادان و بالغین بوده است.

روش کار

رت های حامله نژاد ویستار در هفته دوم بارداری به دو گروه کنترل و تجربی هر کدام به تعداد هشت سر تقسیم شدند. رت های گروه کنترل هیچگونه استرس دریافت نکردند ولی گروه تجربی از روز ۸ تا ۲۱ دوره بارداری هر روز بمدت ۳ ساعت در داخل restrainer از جنس پلکسی گلاس قابل تنظیم با وزن وجته حیوانات تحت استرس بی حرکتی قرار گرفتند.

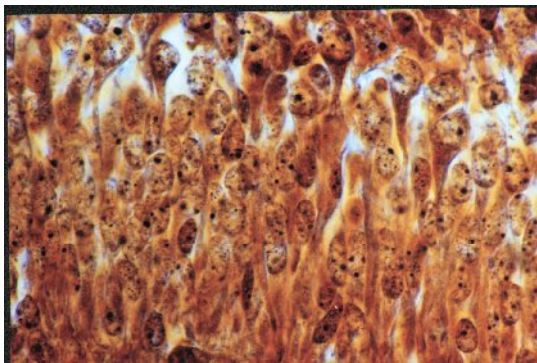
دراولین روز تولد در هر دو گروه کنترل و تجربی ۶ نوزاد نر هر کدام از یک مادربه طور تصادفی انتخاب گردید تادرمورد تغییرات مورفولوژیک هیپوکامپ مورد بررسی قرار گیرند وبقیه فرزندان پیش مادرشان قرار داشتند. بعد از اینکه نوزادان بوسیله کلروفرم بیهوش می شدند سریعاً مغز آنها به وسیله وسایل جراحی خارج شده و در داخل سرم فیزیولوژی قرار می گرفت و دونوع رنگ آمیزی (رنگ آمیزی بامتد گلژی و آبی تولوئیدین) بر روی آنها انجام شد. فرزندان نر باقی مانده در سن ۲/۵ ماهگی به دو گروه هفت تایی که شامل گروه فرزندان استرس دیده و فرزندان بدون استرس در دوره جنینی بودند تقسیم شدند. برای بررسی رفتارهای حرکتی و شناختی از دستگاه Open field (OP) استفاده شد.

OP مورد استفاده قرار گرفته در این آزمایش یک جعبه از جنس فایبر گلاس (شفاف) با ابعاد ۱۰۰ ۱۰۰ ۳۵ سانتی متر بود، صفحه سبز رنگی از همان جنس به ابعاد ۱۰۰ ۱۰۰ سانتی متر که به ۲۵ مربع مساوی (هر مربع ۲۰ ۲۰ سانتی متر) تقسیم شده بود و در وسط هر مربع و خطوط کناری مربعها یک سوراخ به قطر ۵ سانتی متر قرار داشت در فاصله ۸ سانتی متری از کف جعبه فوق الذکر نصب گردید. جهت انجام

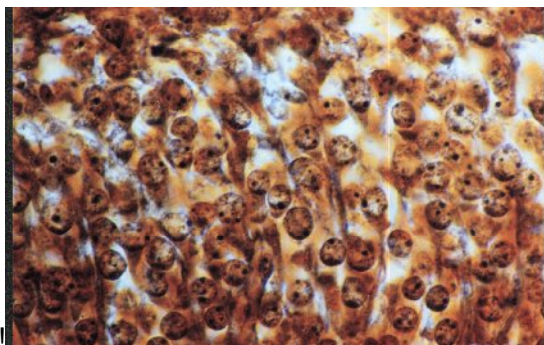
استرس واکنش طبیعی موجود زنده در مقابل محرکهای خارجی و داخلی است که سبب به هم خوردن تعادل زیستی میگردد. از زمانهای قدیم به وضوح مشخص بوده که حالت های هیجانی در مادر ممکن است روی جنین تاثیرگذار باشد و اثرات زیان آوری را برای فرزندان به دنبال داشته باشد و باعث بیماریها یا آسیب های سایکولوژیک زودرس و یا دیررس در زندگی نوزاد گردد. مکانیزمهایی که باعث انتقال استرس از مادر باردار به جنین می شوند شامل انتقال هورمونهای استرس مادری از طریق جفت، آزاد شدن هورمونهای جفتی بدنبال استرس مادری و اثرات القائی استرس جنینی بر روی جریان خون جفت می باشد (۲۱).

CRH (هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین) AVP (آرژنین وازوپرسین) ACTH (آدرنوکورتیکوتروپین) β آندروفین (β -E) و هورمونهای گلوکوکورتیکوئید یعنی کورتیزول در انسان و پریمات ها و کورتیکوسترون در جوندگان از جمله هورمونهایی هستند که بدنبال استرس از محور HPA^۲ ترشح می شود و پاسخهای استرسی را بوجود می آورند. پپتیدهای اوپیوئید از قبیل ACTH و β -E به تنظیم فیدبکی آزاد شدن CRH در پاسخ به استرس کمک می کند که این عمل به وسیله عمل مستقیم بر روی ترمینال CRH در هسته های پاراونتریکولار (PVN) صورت می گیرد. از دیگر سطوح تنظیم فیزیکی محور HPA رسپتورهای گلوکوکورتیکوئید می باشند که دو نوع از رسپتورهای گلوکوکورتیکوئید شناسائی شده اند نوع I و نوع II. بدنبال استرس مادری و بالا رفتن میزان هورمونهای محور HPA در مادر اثرات مختلفی بر روند تکامل نوزادان بوجود می آید که یکی از موارد عمده آن عدم تنظیم محور HPA می باشد، بالا بودن گلوکوکورتیکوئیدها در گردش خون جنین تغییرات رفتاری، بخصوص تغییرات در رفتارهای جنسی را نشان داده است بطوریکه با تزریق روزانه دگزامتازون در هفته آخر بارداری رفتار جنسی مخالف در رت های نر مشاهده شده است (۳ و ۴).

نورونهای پیرامیدال هیپوکامپ دارای غلظت بالایی از رسپتور های گلوکوکورتیکوئید هستند که به افزایش کورتیزول خون حساس هستند و این رسپتورها به وسیله استرس یا گلوکوکورتیکوئیدهای اگزوژنوس تحلیل میروند (کاهش ۷۰٪ در رسپتورهای نوع I و کاهش ۳۰٪ در رسپتورهای نوع II).

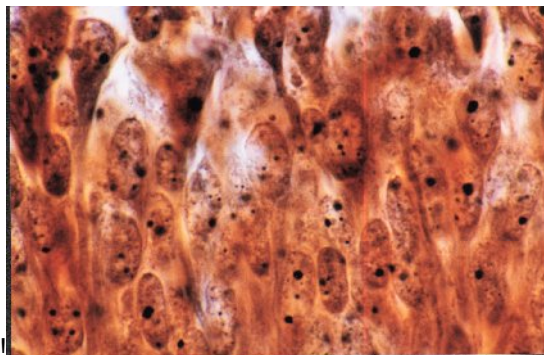


!!A

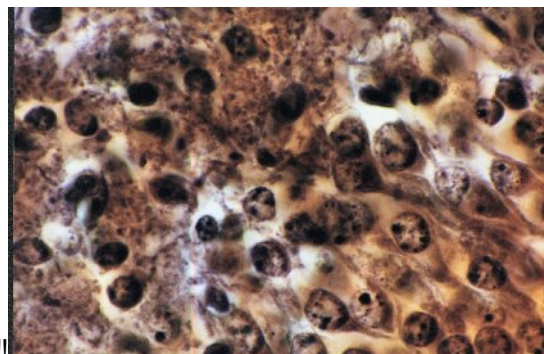


!!B

شکل ۱: تصویر برش هیپوکامپ CA1 (رنگ آمیزی گلژی A: گروه بدون استرس B: گروه استرس دیده، درشت نمایی ۳۰۰)



!!A!



!!B

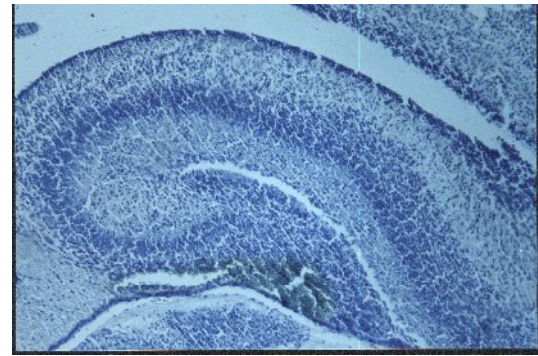
شکل ۲: تصویر برش هیپوکامپ از ناحیه CA3 (رنگ آمیزی گلژی A: گروه بدون استرس B: گروه استرس دیده، درشت نمایی ۳۰۰)

آزمایش از هر یک از گروههای تجربی و کنترل ۷ رت نر ۲/۵ ماهه مورد استفاده قرار گرفتند هر کدام از آنها به مدت ۵ دقیقه از محل مشخص وارد OP گردیدند و شش متغیر (تعداد دفعات ایستادن روی پاها، تعداد دفعات عبور از خانه های کناری، تعداد دفعات عبور از خانه وسطی، تعداد دفعات وارد کردن سر به سوراخ، مدت زمان بی حرکتی و تعداد دفعات دفع مدفوع) اندازه گیری شد و موارد مربوطه به طور دقیق ثبت گردید تا در محاسبات اماری (نرم افزار spss) مورد استفاده قرار گیرد. جهت بررسی میزان تاثیر استرس جنینی بر رفتار هیجانی فرزندان نر بالغ (۲/۵ ماهه) از دستگاه Plus-Elevated maze یا ماز صلیبی استفاده گردید.

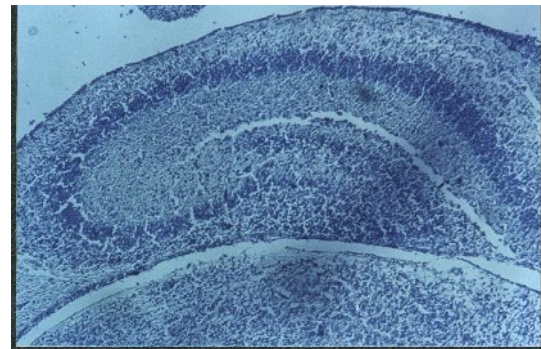
(ابعاد بازوها ۱۰ ۵۰)، دیواره بازوهای لبه بسته ۲۰ و ارتفاع بازوها تا سطح زمین ۵۰ سانتی متر بود. در این آزمون هفت فرزند نر بالغ در هر یک از گروههای تجربی و کنترل انتخاب و شش فاکتور (تعداد دفعات سرپا ایستادن، تعداد دفعات عبور به بازوی لبه دار، تعداد دفعات عبور به بازوی بدون لبه، مدت زمان ماندن در بازوی بدون لبه، مدت زمان ماندن در بازوی لبه دار، مدت زمان بی حرکتی) مورد بررسی قرار گرفت و موارد مربوط به هر گزینه به طور دقیق ثبت گردید تا در محاسبات آماری مورد استفاده قرار گیرد!!

نتایج!!!!

مطالعات و بررسی مورفولوژیکی برشهای انجام گرفته از هیپوکامپ نوزادان در روز اول تولد با میکروسکوپ نوری انجام گرفت و چنین به نظر میرسید که شکل یافتگی نورونها در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل کمتر می باشد که بخصوص در نواحی CA₁ و CA₃ پیرامیدال هیپوکامپ به دلیل دارا بودن نورونهای هرمی بیشتر جلب توجه می کرد (شکل ۱ و ۲). بررسی نمونه های رنگ آمیزی شده با آبی تولوئیدین در روز اول تولد نیز ظاهراً وجود بی نظمی در ساختمان هیپوکامپ و نازک بودن ضخامت نواحی مختلف را نشان می داد (شکل ۳).



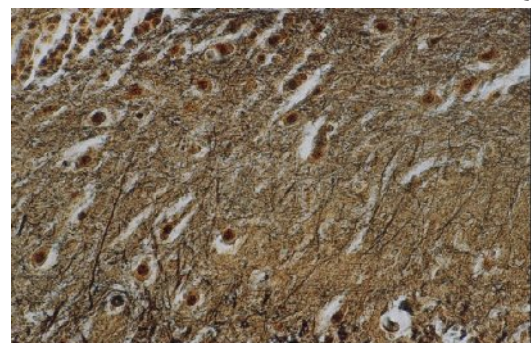
A



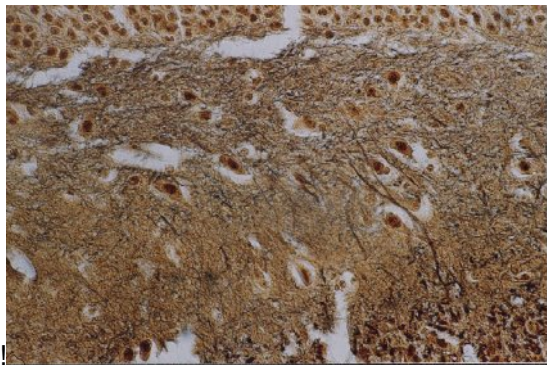
B

شکل ۳: تصویر برش هیپوکامپ (رنگ آمیزی آبی تولوئیدین
A : گروه بدون استرس B : گروه استرس دیده، درشت
نمایی ۳۰۰)

با بررسیهای انجام گرفته بر روی برشهای هیپوکامپ فرزندان در ۲/۵ ماهگی مشاهده گردید که از نظر میزان رشته‌های موجود بین نواحی پیرامیدال و ژيروس دندانهای در گروه استرس و تجربی اختلاف وجود دارد بطوریکه میزان رشته‌ها در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل کمتر دیده می‌شود (شکل ۴) و نورونهای پیرامیدال در گروه تجربی اندازه کوچکتری نسبت به گروه کنترل داشتند و همچنین رنگ آمیزی با آبی تولوئیدین کاهش تراکم نورونی را در نواحی مختلف از جمله در ژيروس دندانهای نشان می‌داد (شکل ۵ و ۶).

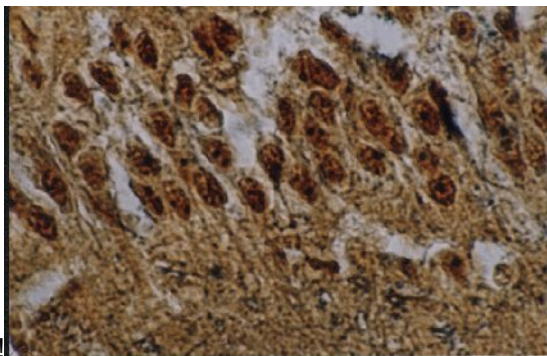


!!A

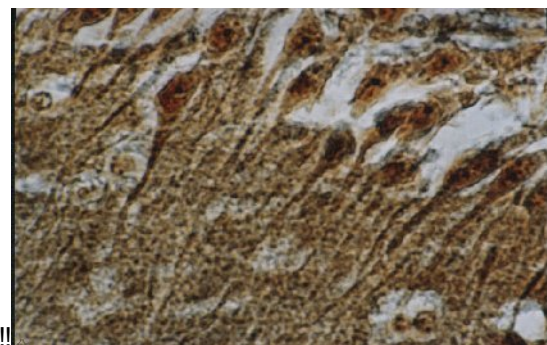


!!B

شکل ۴ : برش از ناحیه ژيروس دندانهای هیپوکامپ در
فرزنان ۲/۵ ماهه (رنگ آمیزی گلژی A: بدون استرس و B :
استرس دیده، درشت نمایی ۳۰۰)



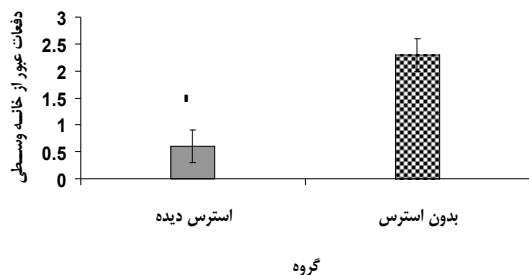
!!A!



!!B

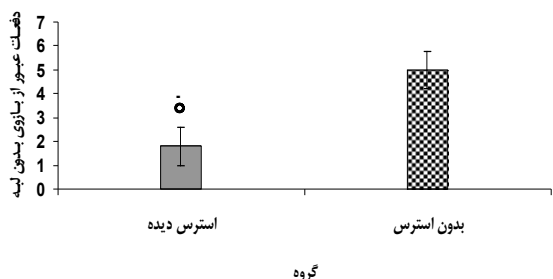
شکل ۵ : برش از ناحیه CA₁ هیپوکامپ در فرزنان ۲/۵ ماهه
(رنگ آمیزی گلژی A: بدون استرس و B : استرس دیده،
درشت نمایی ۳۰۰)

نمودار ۱: دفعات عبور از خانه کناری در آزمون Open field که نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P<0.05$) بین دو گروه است!!

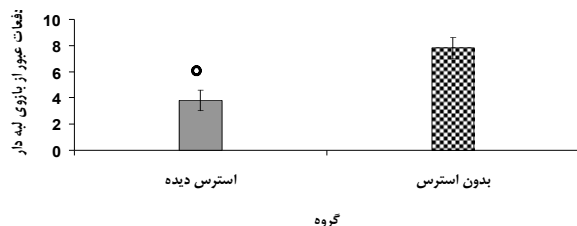


نمودار ۲: دفعات عبور از خانه وسطی در آزمون Open field که نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P<0.05$) بین دو گروه است.

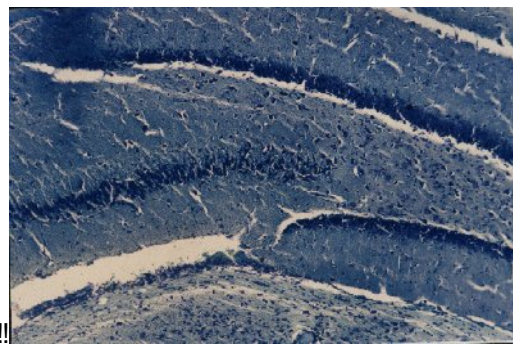
مقایسه نتایج حاصل از آزمون رفتاری Elevated plus-maze بین دو گروه استرس دیده و استرس ندیده نشان داد که در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل تعداد دفعات عبور به بازوی لبه دار، تعداد دفعات سر پا ایستادن و تعداد دفعات عبور به بازوی بدون لبه کمتر و مدت زمان بی حرکتی بیشتر می باشد و از نظر آماری دارای اختلاف معنی داری می باشد (نمودار ۳ و ۴ و ۵ و ۶)!!



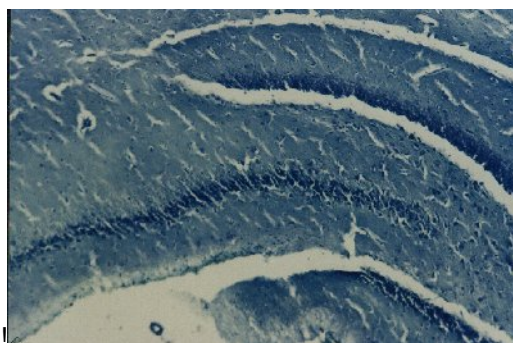
نمودار ۳: دفعات عبور از بازوی بدون لبه در آزمون Elevated plus-maze که نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P<0.05$) بین دو گروه است!!



نمودار ۴: دفعات عبور از بازوی لبه دار در آزمون Elevated plus-maze که نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P<0.05$) بین دو گروه است.



!!A



!!B

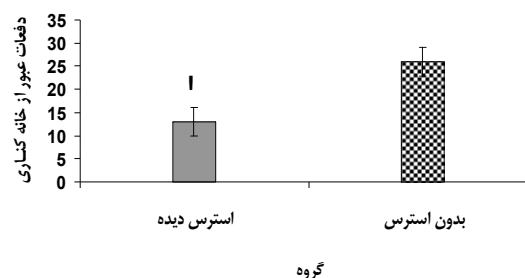
شکل ۶: برش از ناحیه ژيروس دندانهای هیپوکامپ در فرزنان ۲/۵ ماهه کاهش ضخامت در گروه تجربی (رنگ آمیزی آبی تولوئیدین A: بدون استرس و B: استرس دیده، درشت نمایی ۳۰۰)

!!

!!

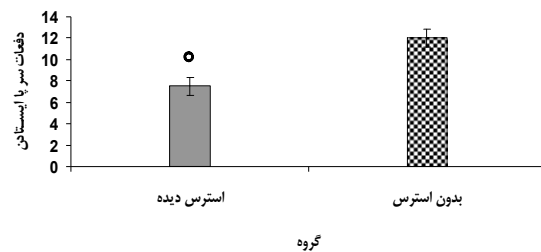
نتایج حاصل از آزمون رفتاری Open field نشان داد که در فعالیتهای حرکتی و شناختی بین تعدادی از پارامترها در گروه تجربی و کنترل اختلاف معنی داری وجود دارد بطوریکه تعداد دفعات عبور از خانه وسطی و تعداد دفعات عبور از خانه

کناری در گروه استرس دیده کمتر از گروه بدون استرس می باشد ($P<0.05$) (نمودار ۱ و ۲)!!

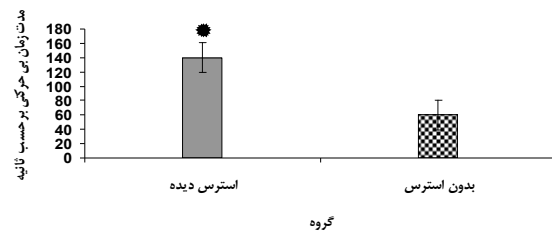


نوروترانسمیترها متأثر از اثرات گلوکوکورتیکوئیدها میباشند و استرس جنینی میزان گلوکوکورتیکوئیدها را به شدت تغییر می‌دهد. بنابراین به عنوان یک عامل محیطی و مثل داروهای مختلف میتواند در تشکیل مدارها و تشکیل رشته های عصبی اختلال ایجاد کند (۱۰ و ۹). از آنجا که هیپوکامپ دارای بیشترین تعداد رسپتورهای گلوکوکورتیکوئیدی در مغز می باشد، تحقیقات بر روی سیگنالینگ پروتئین ها یی مانند پروتئین کیناز فعال شونده با میتوزن P38 در هیپوکامپ فرزندان مادران رت استرس دیده در دوران حاملگی تغییر معنی داری را نشان داده است (۱۱). چنین نتایجی را می توان دلیل مجددی بر بروز تغییرات ساختاری و مولکولی جدی در هیپوکامپ فرزندان استرس دیده دانست.

بررسی های انجام گرفته در این تحقیق نشان داد که استرس دوره جنینی میزان فعالیت های حرکتی و شناختی فرزندان را کاهش و میزان اضطراب و هیجان آنها را افزایش می دهد . با توجه به این که اختلال در تشکیل مدارها و تشکیل رشته های عصبی و همچنین اختلال در میزان ترشح نوروترانسمیترها به دنبال استرس جنینی مشا هده می شود . بنابراین وجود اختلالات رفتاری نیز بین گروه کنترل و گروه تجربی به دور از انتظار نیست بطوریکه تحقیقات انجام شده توسط Herlenius در سال ۲۰۰۱ نشان داده است که دوپامین برای برنامه های حرکتی و شناختی مهم می باشد . نورونهای دوپامینرژیک در انسان در حدود هفته های ۸-۶ تکامل می یابند و سطح بالایی از رسپتورهای D_1 در خلال دوره جنینی در پالیدوم گزارش شده است و نشان داده شده است که رسپتورهای D_1 نسخه برداری از دیگر ژنها را تنظیم میکند. این احتمال وجود دارد که اختلال در تحریک این رسپتورها می تواند موارد دراز مدت بعدی را بدنبال داشته باشد (۹ و ۱۲). بطور کلی اختلال در تکامل سیستم دوپامینرژیک باعث اختلالات حرکتی مختلف گردد و همچنین افزایش ترس در شرایط استرس به تغییر در سیستم دوپامینرژیک نسبت داده شده است. بطوریکه بدنبال استرس جنینی نسبت بالایی از دوپامین در کورتکس پیش پیشانی سمت راست و کاهش فعالیت دوپامین در هسته های آکومبنس سمت راست و اجسام مخطط سمت چپ وجود دارد . همچنین در لوکوس سرلئوس کاهش سطح دوپامین بدنبال استرس جنینی دیده شده است که همه این تغییرات مشاهده شده مشابه با تغییرات ایجاد شده در جانوران بالغ بدنبال استرس می باشد و این داده ها پیشنهاد می کند که استرس مادری در دوره



نمودار ۵: دفعات سر پا ایستادن در آزمون Elevated plus-maze که نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) بین دو گروه است.



!!

نمودار ۶: مدت زمان بی حرکتی در آزمون Elevated plus-maze (زمان بر حسب ثانیه) که نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) بین دو گروه است.

بحث و نتیجه گیری

مطالعه مورفولوژیکی هیپوکامپ نشان داد که استرس جنینی میتواند تأثیراتی از قبیل به تاخیر افتادن شکل گیری نورونها در دوران نوزادی را باعث شده و منجر به کاهش رشته ها بین نواحی پیرامیدال و ژيروس دندانهای هیپوکامپ گردد . با در نظر گرفتن چگونگی تکامل نورونها و مقایسه آن با یافته و نتایج حاصل در این مقاله در کل می توان فرضیه به تاخیر افتادن تکامل هیپوکامپ بدنبال استرس جنینی را مطرح نمود . مطالعاتی که توسط Eric herlenius و سایر همکارانش در سال ۲۰۰۱ انجام گرفته نشان داده است که یکسری از نوروترانسمیترها و نورومودولاورها قبل از تمایز سلولهای عصبی در جنین ظاهر می شوند و در دوره جنینی می توانند بر روی تمایز و رشد نورون ها تأثیر بگذارند (۹). با آنکه ژنها نقش عمده ای را در تکامل سیستم عصبی بر عهده دارند ولی نشان داده شد که عملکرد نوروترانسمیترها و نورومودولاورها در تکامل عصبی بخصوص در تکثیر نورونی و سازمان یابی و تشکیل مدارهای عصبی بسیار مهم می باشد و هر عاملی که بتواند در میزان و نوع ترشحات اینها تأثیر بگذارد می تواند کلیه این روندها را تحت تأثیر قرار دهد. حال با توجه به اینکه

تقدیر و تشکر :

اعتبار هزینه شده در این پژوهش توسط معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد تأمین گردیده است!!
!!

حاملگی غالبیت نیمکره ای در فعالیت دوپامین مغز و افزایش ریسک برای افسردگی و هیجان را در نوزادان افزایش می دهد . همچنین اثرات استیل کولین بعنوان نوروترانسمیتری که در کنترل حرکتی و به احتمال زیاد بعنوان تعدیل کننده اثرات دوپامین نقش ایفا میکند نیز حائز اهمیت است میزان آزاد شدن استیل کولین هم در هیپوکامپ با حالات هیجانی در ارتباط می باشد (۹ و ۱۳ و ۱۴). آزاد شدن استیل کولین هیپوکامپی تا حد زیاد در رت هایی که در دوران جنینی استرس دیده اند نسبت به گروه کنترل بالاست و تکامل سیستم کولینرژیک در گروه استرس دیده دارای تغییراتی می باشد که این تغییرات هم به نوبه خود باعث افزایش پاسخ محور HPA می گردد . این تغییرات به دلیل نقش آن در مراحل اولیه تکامل کورتکس و تمایز کورتکس می تواند روندهای مربوط به یادگیری و شناخت جاندار را تغییر دهد. همچنین نشان داده شده است که سروتونین یکی دیگر از عوامل موثر در تکامل طبیعی کورتکس حسی حرکتی می باشد و افزایش بیش از اندازه سروتونین که بدنبال استرس جنینی گزارش شده است می تواند در مراحل اولیه تکامل اختلال ایجاد کند (۷) . تحقیقات انجام گرفته توسط Roberto Rimondini و همکارانش در سال ۲۰۰۲ و Lordi در سال ۲۰۰۰ نشان داده شده است که فرزندی که در دوره جنینی استرس دیده اند در موقعیت های استرس زا میزان فعالیت اعصاب اتونومیک در حد فوق العاده زیاد نسبت به گروه بدون استرس افزایش می یابد و در نتیجه گروه تجربی اضطراب و هیجان خیلی بالایی را نسبت به گروه کنترل از خود بروز می دهند که این حالات را با کاهش فعالیت های حرکتی در Open field و همچنین با کاهش قرار گرفتن در موقعیت استرس زا (قرار نگرفتن در بازوی بدون لبه Plus-maze Elevated) از خود نشان می دهند و برای برقراری ارتباط با محیط اطراف نیاز به وقت بالائی دارند که این پدیده را با کاهش تحرک نشان می دهند (۱۵ و ۱۶).

References:

1. Arishima K, Nakama S, Morikawa Y, et al. Changes in placental permeability to corticosterone and estradiol-17 beta toward the end of gestation in the rat. *Experientia*. 1977;34: 262-263.
2. Weinstock M. Does prenatal stress impair coping and regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis? *Neurosci Biobehav Rev*. 1997; 21: 1-10.
3. Levitt N.S , Lindsay R.S. Holmes M.C, Seckl J.R. Dexamethasone in the last week of pregnancy attenuates hippocampal glucocorticoid receptor gene expression and elevates blood pressure in the adult offspring in the rat. *Neuroendocrinology*. 1996; 64: 412-418.
4. Qing C, Shuyun H, Zhongliang Z. Sex and region difference of the expression of ERK in prenatal stress offspring hippocampus. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2008;26: 535-540.
5. Braun K , Antemano R , Helmeke C , Buchner M , Poeegel G. Juvenile separation stress induces rapid region-and layer-specific changes in s100 β -and gelial fibrillary acidic protein-immunoreactivity in astrocytes of the rodent medial prefrontal cortex. *Neuroscience*. 2009;160:629-638.
6. Coe C.L, Kramer M , Czeh B, et al. Prenatal stress diminishes neurogenesis in the dentate gyrus of juvenile rhesus monkeys. *Biol Psychiatry*. 2003;54:1025-1034.
7. Kawamura T, Chen J, Takahashi T, Ichitani Y, Nakahara D. Prenatal stress suppresses cell proliferation in the early developing brain. *NeuroReport*. 2006;17: 1515-1518.
8. Muriel K, Valerie L, Michel L. M, Djohar N. A. Age-dependent effect of prenatal stress on hippocampal cell proliferation in female rats. *European Journal of Neuroscience*. 2009;29: 635 – 640
9. Herlenius E, Lagercrantz H. Neurotransmitters and neuromodulators during early human development. *Early Human Development*. 2001; 65 : 21-37.
10. Lemaire V. Koehl M, Lemoal M, Abrous D.N. Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. *PNAS*. 2000; 97:11032-11037.
11. Qing C , Shuyun H, Zhongliang Z , Qinghong L , Ning J, Jankang L . The effects of prenatal stress on expression of p38 MAPK in offspring hippocampus . *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2008; 26: 535-540.
12. Kofman O. The role of prenatal stress in the etiology of developmental behavioral disorders. *Neuroscience and Biobehavioral reviews*. 2002; 26: 457-470.
13. Weinstock M. Alterations induced by gestational stress in brain morphology and behaviour of the offspring . *Progress in Neurobiology*. 2001; 65:427-451.
14. Rimondini R, Agren G , Borjesson S , et al. Persistent behavioral and autonomic supersensitivity to stress following prenatal stress exposure in rats. *Behavioural brain research*. 2003; 140: 75-80.
15. Braastad B.O. Effects of prenatal stress on behaviour of offspring of laboratory and farmed mammals. *Applied Animal Behaviour Science*. 1998 ;61:159-180.
16. Lordi B, Ptin V , Protais P, et al. Chronic stress in pregnant rats : effects on growth rate, anxiety and memory capabilities of the offspring. *International journal of psychology*. 2000; 37:195-205.

!!