مقاله پژوهشی

اثرات استرس ازدحامی بر ساختار بافت شناختی طحال موش سوری نر

دکتر فرزاد رجایی[۱]، طیبه هادیگل[۲]، دکتر زیور صالحی[۳]، دکتر امیر فرزام[۴]

[۱] استاد بافت شناسی و جنین شناسی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران

[۲] کارشناس ارشد علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

[۳] دانشیار ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

[۴] استادیار آسیب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

نشانی نویسنده مسؤول: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، گروه علوم تشریح، دکتر فرزاد رجایی
Email: farzadraj@yahoo.co.uk

وصول: ۹۲/۷/۱۸، اصلاح: ۹۲/۹/۳، پذیرش: ۹۲/۱۰/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به رشد سرسام آور و ازدحام جمعیت در شهر های بزرگ از یک طرف و حساسیت سیستم ایمنی در برابر عوامل محیطی از طرف دیگر، در تحقیق حاضر اثرات استرس ازدحامی به صورت ازدحام موش ها بر روی طحال موش سوری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، ۲۰ سر موش سوری نر بالغ از نژاد NMRI انتخاب و به صورت تصادفی به ۲ گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. در گروه کنترل، ۵ سر موش در هر قفس (۳ قفس) و تجربی ۱۵ سر موش در یک قفس نگهداری شدند. پس از دو ماه ، از قلب حیوانات خون گیری و جهت مطالعات هورمونی با روش رادیو ایمنواسی مورد استفاده قرار گرفت. طحال حیوانات وزن و پس از تهیه لام های میکروسکوپی و رنگ آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین، تعداد سلول های مگاکاریوسیت و ماکروفاژ در گروه ها تعیین و داده های حاصله در گروه های مورد مطالعه با استفاده از آزمون های آماری (T test و آزمون مان ویتنی) در برنامه SPSS نسخه ۱۶ در سطح معنی داری $p<۰/۰۵$ آنالیز شدند.

یافته ها: میانگین وزن طحال و میزان هورمون کورتیزول در گروه تحت استرس در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی داری نداشت. میانگین تعداد ماکروفاژها در گروه تحت استرس نسبت به گروه شاهد اگرچه افزایش داشت ولی معنی دار نبود. میانگین تعداد مگاکاریوسیت ها در گروه تجربی در مقایسه با گروه شاهد دارای کاهش معنی دار بود ($P=۰/۰۰۷$).

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که استرس ازدحامی می تواند منجر به کاهش سلول های مگاکاریوسیت در طحال موش شود ولی هیچ گونه اثر معنی داری بر میزان هورمون کورتیزول سرم، تعداد سلول های ماکروفاژ و وزن طحال ندارد.

واژه های کلیدی: ***استرس، ماکروفاژ، مگاکاریوسیت، موش، طحال***

مقدمه

استرس به عنوان آشفتگی روحی، عاطفی و دگرگونی تعریف می شود که در پاسخ به اثرات عوامل زیان آور خارجی و هم چنین محرک یا موقعیتی که آن را ایجاد می کند، رخ می دهد. اولین بار Hans Selye برای تفکیک وضعیت استرس از محرک هایی که موجب آن می

شود، واژه استرسور را معرفی کرد (۱). استرسورهایی که انسان در دنیای پیشرفته ومدرن امروزی با آنها مواجه است به طور قابل توجه ای در مقایسه با استرسورهای جسمی از تعاملات بین فردی و اجتماعی سرچشمه می گیرد . این استرسورهای اجتماعی در آزمایشگاه ازطریق راه های مختلف شامل شکست حاد ومزمن اجتماعی، اطاعت اجتماعی، ناپایداری اجتماعی، ازدحام و جداسازی شبیه سازی شده است (۲). ازدحام به صورت افزایش تراکم حیوان در قفس تعریف می شود که عامل موثر و مهمی است (۳). گروه های بزرگ تر در یک جا می توانند منجر به تهاجم، تروما و انتقال بیماری شوند (٤). تجمع گاز (٥) حرارت و رطوبت (٦)، کاهش دریافت و استفاده از غذا و هم چنین مداخله در رشد همه ناشی از افزایش اندازه و تراکم قفس هستند. فعالیت فیزیکی نیز می تواند در نتیجه عدم تحرک، محدود شود (۳). ازدحام موش ها می تواند به عنوان استرس بر روی احساس، اعمال مغزی و فعالیت های نورواندوکرین آن ها موثر باشد (۷). در سال ۲۰۰۷، Foltz و همکاران اعلام کردند که در رفاه حیوانات، باید ازدحام قفس مورد ارزیابی قرار گیرد (۸). ثابت شده است که استرس می تواند عملکرد سیستم ایمنی را از طریق فعال کردن محور هیپوتالاموس هیپوفیز آدرنال که سبب تولید واسطه های نوروآندوکرین می شود تحت تاثیر قرار دهد (۹ و۱۰). نشان داده شده است که قرار گرفتن در معرض استرس ناهمگن مزمن در موش نر و ماده سبب افزایش وابسته به جنس رفتار های دردی آزمون فرمالین می شود (۱۱).استرس ازدحامی می تواند با کاهش در قطر اپیدیدیم و قطر و ارتفاع سلول های اپیتلیال دفران بر سیستم تولید مثلی موش سوری نر نیز اثر منفی داشته باشد(۱۲). هم چنین به اثبات رسیده است که تعدادی از این واسطه ها نظیرکورتیکواسترون سرکوب کننده سیستم ایمنی می باشند (۱۳). از آن جایی که طحال یکی از اجزای مهم سیستم ایمنی می باشد، به نظر می رسد که استرس می تواند به عنوان یک عامل موثر بر روی این عضو عمل کند و آن را تحت تاثیر قرار دهد. چنان چه در مطالعه ای نشان داده شده است که استرس بی حرکتی سبب کاهش قابل توجه در سلول های طحال می شود (١٤). هم چنین کاهش در تعداد کل سلول های تک هسته ای در طحال به دنبال استرس محدودیت نیز در تحقیق دیگری به اثبات رسیده است (۱۵). لذا با توجه به رشد سرسام آور جمعیت و ازدحام متعاقب آن در شهر های بزرگ از یک طرف و حساسیت سیستم ایمنی در برابر عوامل محیطی از طرف دیگر، در مطالعه حاضر اثرات هیستولوژیک تراکم جمعیت در مدل حیوانی به صورت ازدحام موش ها بر روی بافت طحال موش سوری به عنوان یکی از اندام های سیستم ایمنی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

۱- حیوانات مورد آزمایش:

در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۰ عدد موش سوری کوچک آزمایشگاهی نر بالغ از نژاد NMRI تهیه شده از مؤسسه رازی کرج با میانگین سن ۵ تا ٦ هفته (۲۵±۲/۵gr.) انتخاب و به صورت تصادفی به ۲ گروه تقسیم و در قفس های مخصوص موش سوری به ابعاد (۲۷ cm × ۲۱ cm ×١٤ cm) در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی قزوین نگهداری شدند. در گروه اول به عنوان گروه کنترل، ۱۵ سر موش در ۳ قفس استاندارد (۵ سر در هر قفس)قرار گرفتند در حالی که در گروه دوم ۱۵ سر موش در یک قفس استاندارد به مدت دو ماه قرار گرفتند. حیوانات تحت شرایط طبیعی آزمایشگاهی شامل سیکل طبیعی شبانه روز (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، دمای محیط ۲۵-۲۱ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. از ظروف پلاستیکی به عنوان ظروف آب استفاده شد آب به میزان ۵ میلی لیتر در شبانه روز به ازای هر سر موش در دسترس قرار داشت. روزانه به آنها غذا داده شد که رژیم غذایی آنها از غذایی فشرده، آماده شده

از انستیتو رازی بود. شرایط فیزیکی و بهداشتی محل نگهداری به طور مطلوب در نظر گرفته می شده و تهویه اتاق به طور مداوم انجام و قفس ها هر روز تمیز می شدند. پس از مدت دو ماه، موش ها ی هر گروه با تزریق ٦٠mg/kg کتامین (Sigma, Germany) و ٦ mg/kg زایلازین (Sigma, Germany) تحت بیهوش قرار گرفتند.

٢- مطالعات هورمونی:

با استفاده از سرنگ انسولین هپارینه از بطن چپ قلب آنها (گروه شاهد و تجربی) خون گیری انجام شد وسپس نمونه های سرم بعد از سانتریفوژ، استخراج و جهت مطالعات هورمونی با استفاده از روش رادیوایمنواسی (RIA) مورد استفاده و اثر استرس بر میزان هورمون کورتیزول در بین گروه های مورد مطالعه به طور جداگانه بررسی و مورد مقایسه قرار گرفت.

٣- بافت شناسی:

سپس طحال حیوانات جدا و وزن شدند. جهت مطالعات میکروسکوپ نوری، نمونه های طحال در داخل محلول فرمالین ١٠٪ (Sigma, Germany) به عنوان فیکساتیو به مدت ٧٢ ساعت قرار داده شدند. پس از انجام مراحل پاساژ بافتی توسط دستگاه Tissue Processor (Shandon-citadel 1000)، شامل فیکساسیون، آبگیری، شفاف سازی و آغشتگی، از نمونه ها توسط دستگاه میکروتوم دوار (Shandon - UK) به ضخامت ٥ میکرون مقطع گیری شد. در نهایت از هر نمونه ٥ برش (برش های ٥ و ٨ و ١١ و ١٧ و١٤) انتخاب و آنگاه با انجام رنگ آمیزی هماتوکسیلن- ائوزین و تهیه لام های میکروسکوپی، دو میدان دید از هر لام در زیر میکروسکوپ (Olympus, AH2) مورد بررسی قرار گرفت. تعداد سلول های مگاکاریوسیت، تعداد سلول های ماکروفاژ در گروه های مورد مطالعه تعیین شد(١٦ و ١٧).

٤- تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات با استفاده از آزمون های T test، مان ویتنی و کولموگروف-اسمیرنف در برنامه SPSS نسخه ١٦ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میزان سطح معنی داری برای تمام تجزیه و تحلیل های آماری p<٠/٠٥ در نظر گرفته شد.

یافته ها

میانگین وزن طحال در گروه شاهد ٠/٢٧±٠/٥٦ و در گروه تحت استرس ٠/١١±٠/٣٥ بود. همان طوری که جدول شماره ١ نشان می دهد میانگین وزن طحال بر حسب گرم در گروه تحت استرس در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی داری نداشت. میزان هورمون کورتیزول بر حسب میکرو گرم بر دسی لیتر در گروه کنترل ١٢/٨٧±٥٠/٥٠ و در گروه تجربی ٨١/٣٤±١٠٠/٤٧ بود. این میزان در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل معنی دار نبود (جدول شماره ١). میانگین تعداد مگاکاریوسیت ها در گروه کنترل ١/٧٢±٦/٨٢ و در گروه تجربی ١/٣١±٣/٢٢ بود. با توجه به شکل ١ و جدول ٢ میانگین تعداد مگاکاریوسیت ها در گروه تحت استرس در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی داری داشت (P=٠/٠٠٧). و هم چنین جدول ٢ نشان می دهد که میانگین تعداد ماکاروفاژها در گروه کنترل ٧/١١±٥/٠٥ و در گروه

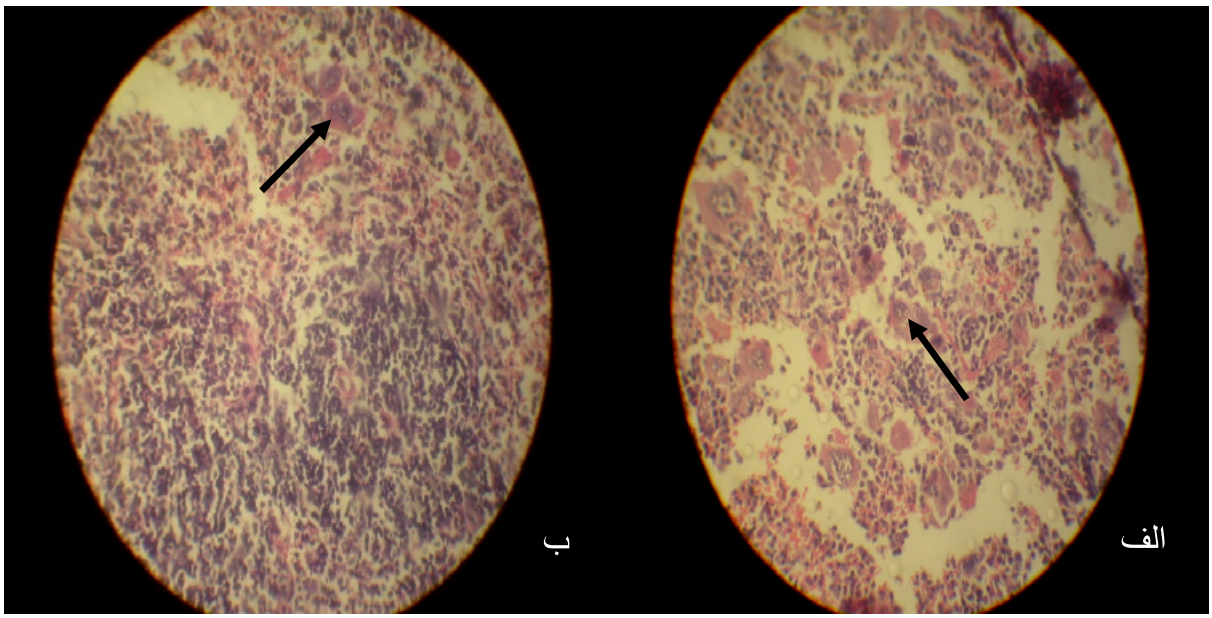
جدول ١: مقایسه وزن طحال و هورمون کورتیزول در گروه های مورد مطالعه

گروه	وزن طحال (گرم)	میزان هورمون کورتیزول (µg/dl)
شاهد	٠/٢٧±٠/٥٦	١٢/٨٧±٥٠ /٥٠
تجربی	٠/١١±٠/٣٥	٨١/٣٤±١٠٠/٤٧
P value	٠/٥٨	٠/٩٥

میانگین بصورت Mean ± SD ارائه گردیده است

جدول ٢: مقایسه تعداد مگاکاریوسیت ها و ماکروفاژها در گروه های مورد مطالعه

گروه	تعداد مگاکاریوسیت ها (عدد)	تعداد ماکروفاژها (عدد)
شاهد	١/٧٢±٦/٨٢	٥/٥/١١±٧
تجربی	١/٣١±٣/٢٢	٤/١٩±٨/٣٠
P value	٠/٠٠٧*	٠/٧٠



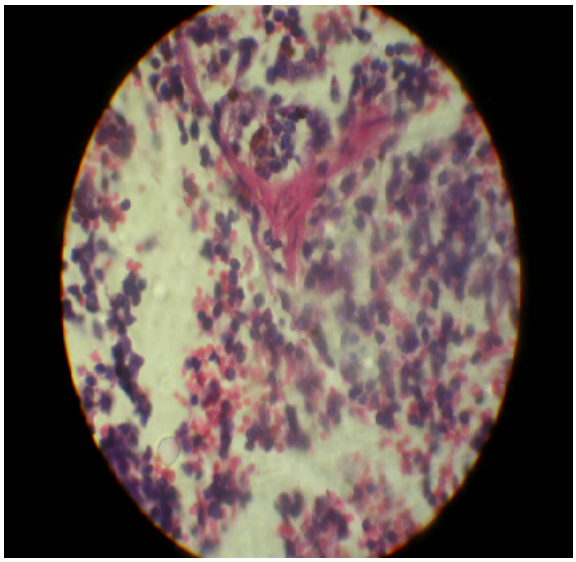
شکل۱- تصویر میکروسکوپ نوری از پولپ قرمز طحال حاوی سلول های مگاکاریوسیت. الف: گروه کنترل که در آن تعداد زیادی سلول های مگاکاریوسیت مشاهده می شود (نوک پیکان). ب: کاهش تعداد سلول های مگاکاریوسیت در گروه تحت استرس به وضوح مشاهده می شود. رنگ آمیزی H&E و بزرگنمایی ٤٠٠

تجربی ٤/١٩±٨/٣٠ است و آزمون آماری نشان داده است که میانگین تعداد ماکاروفاژها در گروه تحت استرس در مقایسه با گروه شاهد اگرچه افزایش داشت ولی معنی داری نبود(جدول ۲ و شکل ۲).

بحث

یافته های مطالعه حاضر نشان داد که وزن طحال در گروه تحت استرس در مقایسه با گروه شاهد دارای اختلاف معنی داری نیست. به طور مشابهی برخی از محققین نیز عدم تغییر در میزان وزن طحال را در اثر استرس ازدحامی نشان دادند به طوری که .Ruis MA و همکاران در سال ۱۹۹۹ تاثیر زندگی شخصی و گروهی را بر روی آسیب پذیری رت های نر نوع وحشی و میزان دفاع اجتماعی آنها مورد بررسی قرار دادند و نتایج، عدم تغییر در میزان وزن طحال و تستوسترون را نشان داد (۱۸). ولی در مطالعه فوق، تعداد ماکروفاژ ها و مگاکاریوسیت ها مورد بررسی قرار نگرفت. هم چنین در مطالعه دیگری تاثیر استرس قبل از تولد بر روی پاسخ های ایمنی خوک ها مورد بررسی قرار گرفت و نتایج، عدم تغییر در میزان وزن طحال را نشان داد (۱۹). در مطالعه دیگری نشان داده شد که وقتی موش های قفس (n=٥) در مجاورت با یک موش مهاجم (۲ ساعت در روز و به مدت یک هفته) قرار می گیرند، افزایش وزن طحال و افزایش تعداد لکوسیت های طحالی مشاهده می شود (۲۰) که افزایش کورتیزول با افزایش اشتها و کاهش کنترل قند خون و در نتیجه افزایش ذخایر چربی می تواند، باعث افزایش وزن اندام های بدن شود. عدم تغییر در میزان وزن طحال در مطالعه حاضر می تواند به دلیل عدم تغییر در میزان هورمون کورتیزول در موش های تحت استرس نسبت به گروه شاهد باشد به طوری که میزان هورمون کورتیزول در موش های تحت استرس نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان نداد.

به طور مشابهی، .Hunt C و همکاران تعداد ٦٠ موش را در ٥ وضعیت مختلف، با تعداد حیوان و ابعاد کف قفس متفاوت قرار دادند. بعد از مدت زمان ١٤ روز میزان سطح کورتیکواسترون سرم حیوانات اندازه گیری شد و هیچ تفاوت معنی داری در میزان سطح کورتیکواسترون سرم حیوانات بین گروه های مختلف



شکل ۲- تصویر میکروسکوپ نوری از پولپ قرمز طحال موش حاوی سلول های ماکروفاژ. رنگ آمیزی H&E و بزرگنمایی ۱۰۰۰

مشاهده نشد (۲۱)، هم چنین Davami A و همکاران تعداد ٤٠٨ مرغ را در ۳ وضعیت مختلف در قفس قرار دادند و تاثیرات جمعیت، فضای کف قفس و شرایط تغذیه را بر روی متغیر های مرتبط با تولید تخم و سطح کورتیکواسترون سرم مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نیز، اختلاف معنی داری را بین گروه ها از نظر میزان سطح کورتیکواسترون سرم نشان نداد (۲۲)، که با نتایج مطالعه حاضر در مورد عدم تغییر میزان کورتیزول در گروه تحت استرس نسبت به گروه شاهد هم سو می باشد. اما نتایج برخی از محققین خلاف این نظر است به طوری که Gamallo A. و همکاران اثر استرس ازدحامی را بر میزان کورتیکوسترون در رت هایی که در سه گروه انفرادی، جمعیت متوسط و پر جمعیت قرار داشتند بررسی کردند. نتایج، افزایش میزان کورتیکوسترون و هیپرتروفی آدرنال را در گروه های انفرادی و پر جمعیت نشان داد (۲۳). هم چنین Laber K. و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که تراکم جمعیت بر میزان کورتیکوسترون گروه ۱۰ تایی موش های آزمایشگاهی که در گروه های ۲، ۵ و ۱۰ تایی برای مدت ۷، ۲۸ و ۷۰ روز نگهداری می شدند تاثیر منفی دارد (٢٤). هم چنین Lürzel S. و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که استرس جمعیتی موجب کاهش میزان کورتیزول در خوک های نر می شود (۲۵). به نظر می رسد که اختلاف جمعیت در حیوانات آزمایشگاهی به ازای هر قفس یعنی تراکم یک عامل مهم در تغییرات فیزیولوژیک است ولی عوامل دیگری نظیر نوع حیوان مورد مطالعه و به دنبال آن میزان تاثیر پذیری حیوان در مقابل عوامل استرس زا و هم چنین نوع و شدت استرس نیز می تواند در میزان ترشح هورمون کورتیزول و واکنش های حیوان موثر باشد و حتی نشان داده شده است که سن حیوانات نیز می تواند عامل موثری در تغییر میزان کورتیزول خون و بروز واکنش های استرسی باشد (٢٦) به طوری که حیوانات مسن تر نسبت به استرس واکنش کمتری دارند و میزان هورمون کورتیزول خون آنها نیز کاهش را نشان می دهد. بنابراین با توجه به تاثیر عوامل مختلف در بروز استرس، نتایج مطالعات محققین متفاوت به نظر می رسد. اگرچه مطالعات زیادی در زمینه ارتباط بین جمعیت قفس و کارکرد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال انجام شده، نتایج به دست آمده متناقض به نظر می رسند. در مطالعه حاضر، عدم تغییر در میزان هورمون کورتیزول را چنین می توان توجیه نمود که در شروع استرس ، جنگ و ستیز بین حیوانات برای به دست آوردن یک سلسله مراتب اجتماعی در هنگامی که آنها در یک گروه قرار می گیرند برقرار شده است به طوری که اگر مقدار کورتیزول خون حیوانات در گروه تحت استرس ، در روز های اول پس از استرس اندازه گیری می شد ممکن بود مقدار کورتیزول خون آنها افزایش را نشان دهد ولی بعد از مدتی یعنی حدود ۲ ماه یک ثبات نسبی اجتماعی در حیوانات ایجاد شده و لذا در میزان هورمون کورتیزول در گروه تحت استرس نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری مشاهده نمی شود.

یافته های بررسی حاضر نشان داد که استرس

منجر به کاهش تعداد مگاکاریوسیت ها در گروه تحت استرس در مقایسه با گروه شاهد شده است. در مطالعه ای، افزایش شاخص بیوشیمیایی استرس اکسیداتیو شامل لیپید پراکسیداز غشا و کاهش در غلظت آنزیم های آنتی اکسیدان بافتی شامل سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به دنبال ورزش و تمرین حاد در طحال مشاهده شد و آن ها نتیجه گرفتند که آسیب های اکسیداتیو در بافت های لنفاوی که بر اثر ورزش سخت اتفاق می افتد ممکن است در آسیب سلولی به دنبال ورزش و تمرین سخت شرکت داشته باشد (۲۷). از طرف دیگر طحال یک محل خون سازی در موش سالم می باشد و فعالیت خون سازی در پاسخ به استرس افزایش می یابد (۲۸) و سلول های پیشساز رده اریتروئید/مگاکاریوسیت که در طحال به سر می برند سبب تولید سلول های مختلف خونی می شوند (۲۹) که این مسئله نیز سبب کاهش ذخیره مگاکاریویستی در طحال می شود. در مطالعه ای نشان داده شد که استرس روانی– احساسی مزمن سبب کاهش در تعداد کل سلول های طحال می شود (۳۰). از یافته های دیگر مطالعه حاضر، عدم تفاوت معنی دار سلول های ماکروفاژ به دنبال استرس در مقایسه با گروه کنترل بوده است. با توجه به این که نشان داده شده است که گلوکوکورتیکوئید ها نظیر کورتیزول باعث مهار سیستم ایمنی و واکنش های التهابی می شوند (۳۱ و ۳۲) و از طرفی ماکروفاژ ها یکی از سلول های مهم در ایجاد وکنش التهابی هستند، عدم تغییر در میزان هورمون کورتیزول در گروه تحت تاثیر استرس در مقایسه با گروه کنترل، منجر به عدم تفاوت معنی دار سلول های ماکروفاژ به دنبال استرس در مقایسه با گروه کنترل شده است و بنابراین عدم تفاوت معنی دار سلول های ماکروفاژ بدنبال استرس در مطالعه حاضر امری طبیعی به نظر میرسد.

نتیجه گیری

نتایج نشان داد که استرس ازدحامی می تواند به افزایش سلول های مگاکاریوسیت در طحال موش سوری منجر شود ولی هیچ گونه اثر معنی داری بر میزان هورمون کورتیزول سرم، تعداد سلول های ماکروفاژ و وزن طحال ندارد. با این وجود برای تایید نتایج مطالعه حاضر به مطالعات بیش تری در این زمینه مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین به جهت تامین هزینه این مطالعه تقدیر و تشکر می شود.

References

1. Selye H. Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. Can Med Assoc J. 1976; 115(1): 53-6.
2. McEwen BS. Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. Eur J Pharmacol. 2008 Apr; 583(2-3):174-85.
3. Woolverton WL, Ator NA, Beardsley PM, Carroll ME. Effects of environmental conditions on the psychological wellbeing of primates. Life Sci. 1989, 44(14): 901–917.
4. Serrano L J. Carbon dioxide and ammonia in mouse cages: effect of cage covers, population, and activity. Lab. Anim. Sci. 1971, 21(1): 75–85.
5. Anderson A, Werboff J, Les E P. Effects of environmental temperature-humidity and cage density on body weight and behavior in mice. Experientia. 1968; 24(10): 1022–1023.
6. Les EP. Cage population density and efficiency of feed utilization in inbred mice. Lab. Anim. Care. 1968, 18(3): 305–313.
7. Y?ld?z A, Hayirli A, Okumus ZKaynar ? , K?sa F. Physiological profile of juvenile rats:effects of cage size and cage density. 2007 Apr; 36(4): 47.
8. Foltz C, Carbone L, DeLong D, Rollin BE, Van Loo P, Whitaker J, Wolff A. Considerations for determining optimal mouse caging density. Lab Anim (NY). 2007 36(10): 40-9.

9. Zwilling BS, Brown D, Feng N, Sheridan J and Pearl D: The effect of adrenalectomy on the restraint stressed induced suppression of MHC class II expression by murine peritoneal macrophages. Brain Behav. Immun. 1993; 7: 29–35.
10. Riley V: Psychoneuroendocrine influences on immunocompetence and neoplasia. Science. 1981; 212: 1100–1109.
11. Rajaei F, Erami E, Azhdari-Zarmehri H. Effect of Exposure to Chronic Heterogeneous Sequential Stress during Prenatal on Formalin-Induced Nociceptive Behaviour in Adult Offspring in Rats. J Isfahan Med Sch 2013; 31(256): 1-9.
12. Ghasemi M, Rajaei F, Mohammadnejad D, Javadi A. The Histopathological Effects of Social Stress on Mouse
13. Reproductive Ducts. J Ardabil Univ Med Sci. 2011; 11(4): 354-362.
14. Dhabhar FS, Miller AH, Stein M, McEwen BS and Spencer RL: Diurnal and acute stress-induced changes in distribution of peripheral blood leukocyte subpopulations. Brain Behav. Immun. 1994; 8: 66–79.
15. Dom?nguez-Gerpe L and Rey-Méndez M: Alterations induced by chronic stress in lymphocyte subsets of blood and primary and secondary immune organs of mice. BMC Immunology. 2001; 2:7.
16. Mannoor M., Tsukamoto M, Watanabe H. The efficacy of royal jelly in the restoration of stress-induced disturbance of lymphocytes and granulocytes. Biomedical Research. 2008; 19 (2): 69-77): 87-95.
17. Sabernia T, Rajaei F. The effects of chronic multiple stresses on morphometric changes of Betz cells in internal pyramidal layer of rat cerebral cortex. Journal of Qom University of Medical Sciences 2013; 7 (6):1-6.
18. Sabagh-ziarani F., Borhani N., Rajaei F., Esmaeili MH. The effects of electromagnetic field on fertility and mouse gonads in preimplantation stage. Iranian journal of endocrinology and metabolism (IJEM) march 2009; 10(6 (sn 42)):647-652.
19. Ruis MA, te Brake JH, Buwalda B, De Boer SF, Meerlo P, Korte SM, Blokhuis HJ, Koolhaas JM. Housing familiar male wildtype rats together reduces the long-term adverse behavioural and physiological effects of social defeat. Psychoneuroendocrinology. 1999;24(3):285-300.
20. Couret D, Prunier A, Mounier AM, Thomas F: Comparative effects of a prenatal stress occurring during early or late gestation on pig immune response. Physiol Behav. 2009; 98(4):498-504.
21. Stark JL, Avitsur R, Padgett DA, Campbell KA: Social stress induces glucocorticoid resistance in macrophages. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2001; 280(6):R1799-805.
22. Hunt C, Hambly C: Faecal corticosterone concentrations indicate that separately housed male mice are not more stressed than group housed males. Physiol Behav. 2006 Mar 30;87(3):519-26.
23. Davami A, Wineland MJ, Jones WT, Ilardi RL, Peterson RA: Effects of population size, floor space, and feeder space upon productive performance, external appearance, and plasma corticosterone concentration of laying hens. 1987 Feb;66(2):251-7.
24. Gamallo A, Villanua A, Trancho G, Fraile A: Stress adaptation and adrenal activity in isolated and crowded rats. Physiol Behav. 1986;36(2):217-21.
25. Laber K, Veatch LM, Lopez MF, Mulligan JK, Lathers DM: Effects of housing density on weight gain, immune function, behavior, and plasma corticosterone concentrations in BALB/c and C57BL/6 mice. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2008 Mar;47(2):16-23.
26. Lürzel S, Kaiser S, Sachser N: Social interaction, testosterone, and stress responsiveness during adolescence, Physiol Behav. 2010 Jan 12;99(1):40-6.
27. Lürzel S, Kaiser S, Sachser N. Social interaction decreases stress responsiveness during adolescence. Psychoneuroendocrinology. 2011 Apr 12.
28. 27)Azenabor A. and Hoffman-Goetz L. Intrathymic and intrasplenic oxidative stress mediates thymocyte and splenocyte damage in acutely exercised mice. J Appl Physiol. 1999; 86(6) 1823-1827.
29. Li XM, Hu Z, Sola-Visner M, Hensel S, Garner R, Zafar AB, Wingard JR, Jorgensen ML, Fisher RC, Scott EW, Slayton WB: Sites and kinetics of donor thrombopoiesis following transplantation of whole bone marrow and progenitor subsets. Exp Hematol. 2007;35(10):1567-79.
30. Sanchez M, Weissman IL, Pallavicini M, Valeri M, Guglielmelli P, Vannucchi AM, Migliaccio G, Migliaccio AR: Differential amplification of murine bipotent megakaryocytic/erythroid progenitor and precursor cells during recovery from acute and chronic erythroid stress. Stem Cells. 2006; 24(2):337-48.
31. Tenditnik MV, Shurlygina AV, Mel'nikova EV, Kudriavtseva NN, Trufakin VA: Effect of chronic psychoemotional stress on subpopulation spectrum of T-lymphocytes in immunocompetent organs in male mice. Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova. 2004;90(12):1522-9.
32. Castro R, Zou J, Secombes CJ, Martin SA. Cortisol modulates the induction of inflammatory gene expression in a rainbow trout macrophage cell line. Fish Shellfish Immunol. 2011 Jan; 30(1):215-23.
33. Baybutt HN, Holsboer F. Inhibition of macrophage differentiation and function by cortisol. Endocrinology.

1990 Jul;127(1):476-80.
34. Ghasemi M, Rajaei F, Mohammadnejad D, Javadi A. The Histopathological Effects of Social Stress on Mouse
35. Reproductive Ducts. J Ardabil Univ Med Sci. 2011; 11(4): 354-362.

The effects of crowding stress on histological structure of mouse spleen

Rajaei F., Ph.D
Professor of Histology and Embryology , Qazvin University of Medical Sciences. Qazvin, Iran

Hadigol T., Ph.D Student
MSc of Anatomical Sciences, Qazvin University of Medical Sciences. Qazvin, Iran

Salehi Z., MD, Ph.D
Associate Professor of Genetic, Gilan University. Rasht, Iran

Farzam A., Ph.D
Assistant professor of Pathology, Qazvin University of Medical Sciences. Qazvin, Iran

Received:10/10/2013**, Revised:**24/11/2013**, Accepted:**10/01/2014

Corresponding Author:
Qazvin, University of Medical Sciences, Faculty of Medicine, Dr Farzad Rajaei E-mail: farzadraj@yahoo.co.uk

Abstract

Background and Objectives: Regarding to remarkable growth of population and consequent crowding of it in big cities and immune system sensitivity against environmental agents, the present study aimed to investigate the effects of social stress on spleen of mouse.

Methods and Materials: Thirty adult male mice of the NMRI strain were selected at the age of 5-6 weeks and were randomly divided into 2 groups. In control group, 5 animals per cage (3 cages) and in stress group, 15 animals per cage were housed for a period of two months. All animals were anesthetized with an intrapritoneally injection of ketamine and xylazine after two months. The sample of blood from left ventricle of heart was provided by heparinized syringe. Serum samples were used for hormonal study by radioimmunoassay. Spleen was weighted after removing and the samples of spleen were fixed for light microscopic study. The mean numbers of macrophage and megakaryocyte cells were determined. The data has been compared using statistical methods (t-test and Mann-Whitney test).

Results: The mean weight of spleen and corticosterone level of serum was insignificantly reduced in stress group compared to control group. The mean numbers of macrophage cells in stress group were insignificantly increased compared to control group. The results showed that the mean numbers of megakaryocyte cells were significantly reduced between stress and control group(P=0.007).

Conclusions: The results showed that the crowding stress can be resulted in decreased number of megakaryocyte cells whereas no significant effect on macrophage cells, serum cortisol hormone level and weight of spleen were found. However, further studies in this area are needed to confirm it.

Keywords: *crowding stress, macrophage, megakaryocyte, mouse, spleen.*