

بررسی اثر استرس غیر کنترل شده در مادر باردار بر اندازه تیموس جنین در موش صحرایی بزرگ

زهرة سادات میردامادیان* M.D، هدایت صحرائی^ک Ph.D.

بهناز اسفندیاری** M.Sc، حسین بهادران*** Ph.D

چکیده

هدف: استرس کلمه‌ای با مفهوم گسترده است که می‌توان آن را هر عاملی دانست که ثبات محیط بدن را بهم می‌زند. تحقیقات قبلی اثر استرس دوران بارداری را بر بروز بیماری‌هایی مانند دیابت به اثبات رسانده است. آنچه در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است ارتباط استرس دوران بارداری بر اندازه تیموس جنین می‌باشد.

موارد و روش‌ها: در این مطالعه از موشهای بزرگ آزمایشگاهی ساده نژاد ویستار با میانگین وزنی ۳۰۰-۲۵۰ g استفاده شد. گروه کنترل (۷ موش ماده)، گروه استرس سر و صدا (S1) (۷ موش ماده)، گروه استرس ممانعت از حرکت (S2) (۷ موش ماده) در نظر گرفته شدند. گروههای استرس پس از بارداری تحت استرس (به مدت ۱۵ روز، هر روز بمدت ۱۵ دقیقه) قرار گرفتند. موشهای مادر روز ۱۹ بارداری بیهوش و جنین‌ها از بدن مادر با جراحی خارج و جهت فیکس شدن در محلول بوئن قرار گرفتند. پس از طی مراحل پردازش بافتی، برشهایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و سپس با استفاده از رنگ آمیزی هما توکسیلین اتوزین رنگ آمیزی شد. نتایج با کمک نرم افزار موتیک (MOTIC) در موشهای کنترل و آزمایش بررسی شد.

یافته‌ها: جنین‌ها از نظر وزن، طول سری دمی و طول و عرض و مساحت غده تیموس بررسی شدند. وزن و طول در جنین‌های هر دو گروه آزمایش S1 و S2 نسبت به جنین‌های گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان نداد. ولی کمیت‌های مربوط به اندازه غده تیموس در جنین‌های گروه استرس کاهش معنی‌داری نسبت به جنین‌های گروه کنترل نشان داد.

نتیجه‌گیری: با اینکه استرس غیر کنترل شده از نوع خفیف تغییرات ماکروسکوپی را بر وزن و طول جنین ایجاد نمی‌کند ولی کاهش سایز غده تیموس می‌تواند دلیل محکمی باشد بر تأثیر پذیری جنین از استرس‌های دوران بارداری، که با توجه به اینکه بیشتر رشد و نمو این غده در دوران قبل از تولد رخ می‌دهد و با توجه به اهمیت این غده به عنوان بخشی از سیستم ایمنی در دوران کودکی اختلال در رشد این غده ممکن است مشکلات فراوانی را در فرد ایجاد کند.

واژه‌های کلیدی: استرس مخالفت از حرکت، استرس سر و صدا، تیموس، موش بزرگ آزمایشگاهی

دریافت مقاله: ۸۷/۱/۱۰ پذیرش مقاله: ۸۷/۳/۲

* دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک و مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی

^ک نویسنده مسئول: دانشیار دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک و مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی E-mail:h.sahraei@bmsu.ac.ir

** کارشناس ارشد دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، پژوهشکده طب رزمی، مرکز تحقیقات علوم رفتاری

*** استادیار دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح، و مرکز تحقیقات بهداشت نظامی

مقدمه

محققان پس از بررسی و مطالعات زیاد در جوامع انسانی و نیز در مدل‌های حیوانی دریافته‌اند که وجود استرس می‌تواند زمینه‌ساز بروز مشکلات فراوانی در رفتار و عملکرد موجود زنده باشد. استرس پاسخ‌های تطابقی مهمی را در پاسخ به محرک‌های فیزیکی، روانی، عفونی و سایر محرک‌های آسیب‌رسان (استرسور) که تعادل درونی بدن (هموستاز) را برهم می‌زند، آغاز می‌کند و به ارگان‌سیستم توان مقابله با تغییرات محیط را می‌دهد. یک استرس حاد و مناسب می‌تواند کارایی فرد را بالا ببرد و بنابراین در موارد معینی مفید واقع شود، اما زمانیکه استرس طولانی و یا تکراری شود می‌تواند آسیب‌رسان باشد (۱).

استرسورها به سه دسته بزرگ تقسیم می‌شوند: استرسورهای روانی نظیر مواجهه با محیط جدید و یا محیطی که غیر قابل کنترل باشد. استرسورهایی که دارای یک محرک فیزیکی هستند و جزء روانی قوی دارند نظیر درد، شوک الکتریکی، بی‌حرکتی و استرسورهایی که هموستاز قلبی عروقی را مختل می‌کنند، نظیر خونریزی، ورزش و مواجهه با گرما (۲). استرسورهای مختلف عمدتاً پاسخ‌های مشابهی را موجب می‌شوند که شامل تغییراتی در رفتار، عملکرد سیستم اتونومیک، ترشح چندین هورمون از جمله آدرنوکورتیکو تروپین از غده هیپوفیز، کورتیزول و کاتکول آمین‌های مغز غده فوق کلیوی می‌باشد (۳). محور هیپوتالاموس هیپوفیز-فوق کلیوی (HPA) و سیستم سمپاتیکی فوق کلیوی از اعضای محیطی می‌باشند که مغز از طریق آنها تمامی سلول‌های بدن را هنگام مواجهه با محرک‌های تهدید کننده تحت تأثیر قرار می‌دهد. افزایش هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی که در زمان استرس رخ می‌دهد، باعث مهار پاسخ سلول‌های لنفوسیت نوع T می‌گردد و ممکن است که تیموس را نیز از نظر فعالیت خاموش سازد (۴-۵).

اعمال استرس در دوره بارداری می‌تواند در رشد و تکامل فیزیولوژیکی جنین تأثیر بگذارد. اکثر هورمون‌های ترشح شده در هنگام استرس توانایی عبور از سد خونی جفتی را دارند و به این ترتیب می‌توانند بر جنین اثر بگذارند و در تکوین آن اختلال بوجود آورند. در فرزندان که در دوره جنینی در معرض استرس بوده‌اند، کاهش وزن، تضعیف

سیستم ایمنی، تغییر در ترشح نورترانسسمیترهائی نظیر دوپامین، سروتونین، گابا و نوراپی نفرین گزارش شده است (۶). از آنجائی که یکی از سیستم‌هایی که بخش عمده تکامل آن در دوره جنین رخ می‌دهد سیستم ایمنی است (۷)، این پرسش مطرح می‌شود که ناراحتی روحی و استرس‌های عاطفی در دوران بارداری چه تأثیری بر این سیستم در جنین خواهد داشت؟ به عبارت دیگر، آیا استرس روانی مادر در دوران بارداری باعث اختلال در تکامل سیستم ایمنی جنین خواهد شد؟

غده تیموس یک ارگان صورتی خاکستری رنگ است که در زیرگردن و ناحیه قفسه سینه قرار گرفته است. این ارگان در بدو تولد و در دوران کودکی بزرگتر از دوران بلوغ است و مسول آماده‌سازی گروهی از گلبول‌های سفید خون بنام لنفوسیت‌های نوع T می‌باشد. لنفوسیت‌های T ایمنی سلولی را ایجاد می‌کنند، بدین معنی که در شناسائی و تخریب باکتریها، ویروسها و سلول‌هایی که به طور غیر طبیعی رشد کرده‌اند مثل سلول‌های سرطانی و همچنین بافت‌های بیگانه کمک می‌کنند (۷). در این غده مهمترین جسم قابل مشاهده، اجسام هاسال می‌باشد که تعداد آنها نموداری از میزان تکامل یافتگی تیموس می‌باشد (۷). به این معنی که هرچه تعداد این اجسام فزونی یابد، تیموس نیز بیشتر تکامل یافته است (۷). در نمونه‌های حیوانی که تیموس آنها در بدو تولد یا دوران کودکی برداشته شده بود، حیوان دچار کاهش یا عدم توانائی در شناسائی و از بین بردن بافت خارجی گردید. در مطالعه دیگری با تزریق سلول‌های سرطانی به حیوان دریافته‌اند تیموس در تخریب این سلولها نقش به سزائی دارد (۸). به هر حال محققان معتقدند زمانی که کودکان دچار سندرم مرگ ناگهانی «مرگ گهواره» می‌شوند، با اینکه سایز و رشد تیموس در آنها طبیعی بوده است، اما علت مرگ یک بیماری مرتبط با تیموس است که اصطلاح «Status Thymicolus Phaticus» در مورد آن به کار می‌رود (۹). همچنین معتقدند کودکان با اندازه تیموس بزرگتر به عنوان عضو حیاتی در سیستم ایمنی در مقابل عفونت‌ها، سرطان و بیماری‌های مزمن نسبت به کودکان با تیموس کوچکتر کمتر در معرض خطر هستند. با وجود تحقیقاتی زیادی که در زمینه تأثیر استرس بر پارامترهای

داشت ایجاد می‌شد (یک صوت ساده ولی ناگهانی و ضربه‌ای با شدت بیش از ۸۰ دسی بل). بعد از اتمام ۵ دقیقه ۲۰ دقیقه محیط در سکوت بود و دوباره ۵ دقیقه دوم و سوم اعمال استرس شروع می‌شد. در مدت اعمال استرس با هر ضربه عکس العمل ناگهانی موشها به صورت تنش بدنی و پریدن در قفس قابل مشاهده بود. برای القاء استرس ممانعت از حرکت، از لوله پولیکا به قطر ۱۰ سانتی متر و طول ۳۰ سانتی متر استفاده شد. یکطرف لوله با استفاده از حرارت مسدود گردید و طرف دیگر لوله بعد از قرار دادن حیوان در داخل آن با مانع بسته می‌شد (به مدت ۱۵ روز، هر روز ۱۵ دقیقه). هر دو نوع استرس در ساعات مختلفی از روز در این مدت (۱۵ روزه) اعمال شد. با توجه به اینکه روز ۱۸ بارداری غده تیموس به حداکثر بلوغ خود در دروه جنینی می‌رسد، در روز ۱۹ بارداری موشهای مادر هر ۳ گروه پس از بیهوشی با اتر جراحی شده و رحم همراه با جنین‌ها خارج گردید و پس از شستشو با آب مقطر به محلول فیکس تیو بوئن انتقال یافتند. پس از ۴۸ ساعت جنین‌ها از صفاق رحم جدا گردیدند و پس از توزین و اندازه گیری طول آنها مراحل آبیگری، برش گیری و رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین ائوزین (H&E) صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد بیان شدند. اطلاعات با استفاده آنالیز واریانس یکطرفه و تست توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. $P < 0/05$ به عنوان مرز معنی دار بودن در نظر گرفته شد.

نتایج

مشاهدات ماکروسکوپی

اثر اعمال استرس در مادران بر وزن جنین: وزن جنین‌ها در گروه کنترل و دو گروه آزمایش برحسب گرم اندازه گیری شد. و در گروههای آزمایش (S_1 و S_2) میانگین وزن جنین‌ها به نسبت گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان نداد (نتایج نشان داده نشده است).

اثر استرس بر طول سری دمی جنین‌ها به عنوان معیاری از رشد آنها:

ایمونولوژیک انجام شده است (برای مرور رجوع شود به: ۲)، تاکنون تحقیقی در مورد تأثیر استرس دوران بارداری بر اندازه و سایز تیموس در جنین‌ها صورت نگرفته است. بر این اساس، ما در این مطالعه به بررسی اثر استرس روانی ملایم اما کنترل نشده بر تغییرات ساختمانی در تیموس در موش بزرگ آزمایشگاهی پرداختیم. با توجه به اینکه تیموس جوندگان از بسیاری از جهات شبیه تیموس انسان است و در بین جوندگان تیموس موش صحرایی نژاد ویستار بهتر قابل بررسی است، از موش صحرایی به عنوان حیوان مدل استفاده شد (۷).

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۳۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر و ماده نژاد ویستار استفاده شد (۲۱ موش ماده و ۹ موش نر با میانگین وزنی ۲۵۰g). حیوانات از انستیتو پاستور (تهران-ایران) خریداری و در اتاق نگهداری حیوانات در دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) نگهداری شدند. در این مدت شرایط دما و رطوبت برای تمام نمونه‌ها درجه حرارت درجه سانتیگراد و رطوبت ۴۵-۵۰٪ فراهم شد. تنظیم نور اتاق به صورت تاریکی - روشنایی و سیکل طبیعی روز و شب بود. برای تغذیه حیوانات از قرص خوراکی آماده (پلت) که از شرکت دام و طیور پارس تهیه شده بود استفاده گردید و آب لوله کشی شهری در اختیارشان قرار می‌گرفت.

روش القاء استرس

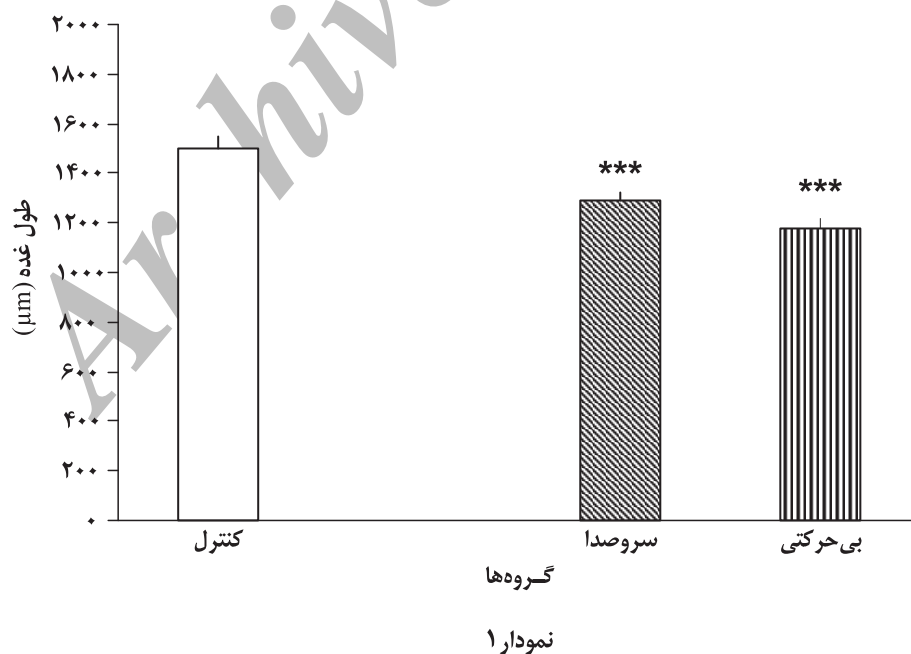
۲۱ موش ماده در شرایط یکسان بعد از جفت گیری با موش‌های نر و مشاهده توپی واژینال (vaginal plug) که موید برجفت گیری می‌باشد به ۳ گروه ۷ تایی تقسیم شدند. روز تشکیل توپی واژینال و مشاهده آن روز صفر بارداری (E_0) محسوب شد. یک گروه به عنوان گروه کنترل، گروه دوم، گروه استرس سر و صدا (S_1) و گروه سوم گروه استرس ممانعت از حرکت (S_2) مشخص گردید. از روز دوم بارداری اعمال استرس به گروههای آزمایشی شروع شد و تا روز ۱۵ بارداری ادامه یافت. گروه استرس سر و صدا هر روز بمدت ۱۵ دقیقه در ۳ نوبت ۵ دقیقه ای با استرس سروصدا مواجه می‌شد. بدین معنی که در ۵ دقیقه اعمال استرس هر ۱۰ ثانیه یک ضربه ناگهانی توسط دو سطح فلزی که در مجاورت قفس نگهداری حیوانات قرار

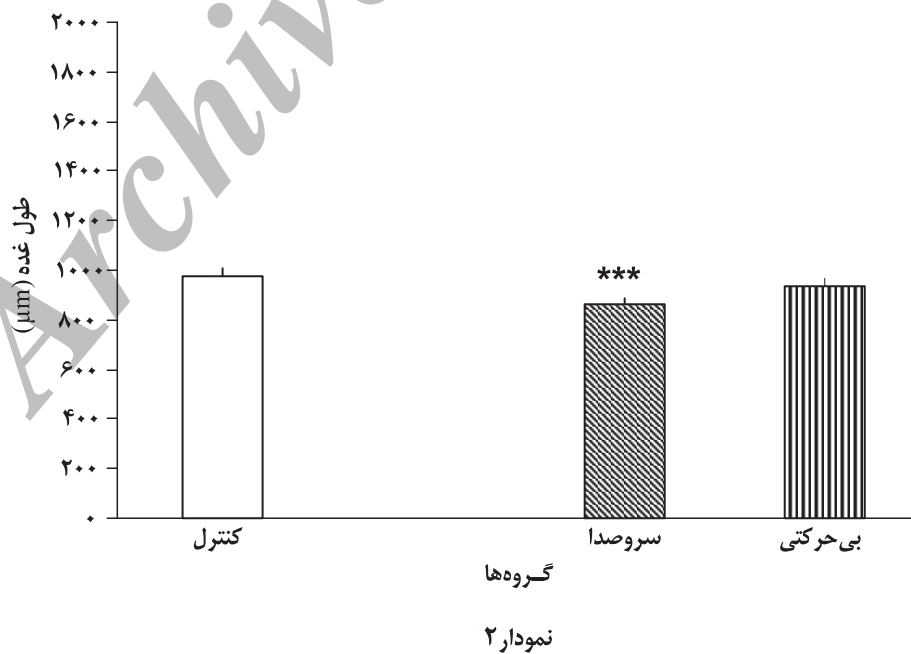
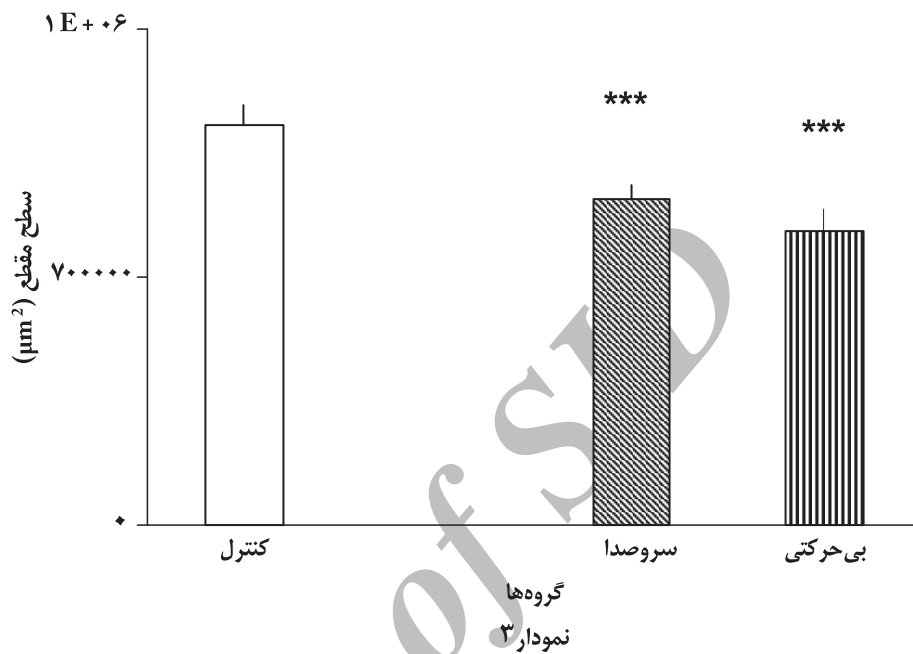
بحث

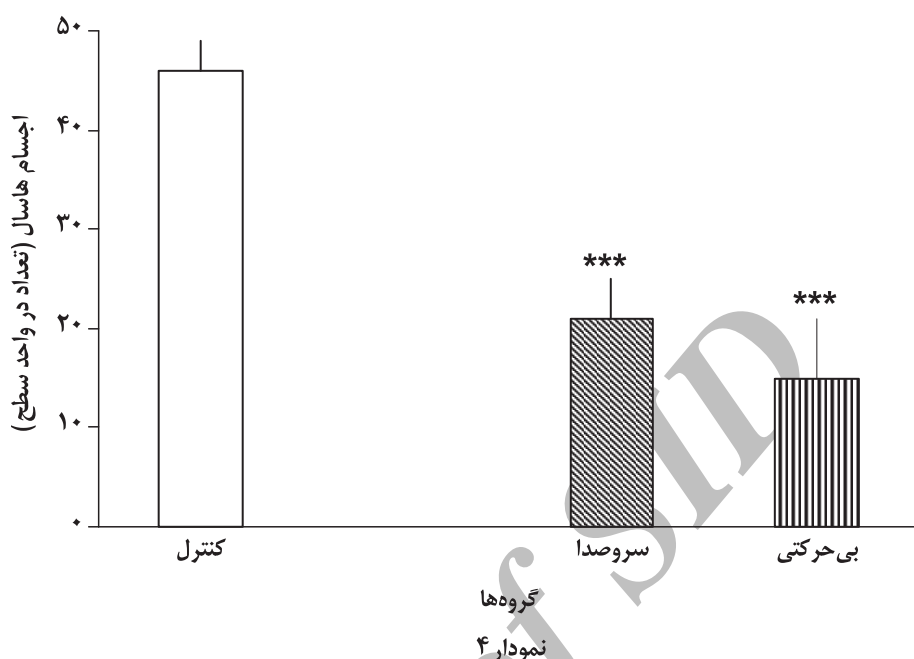
نتایج حاصل از این تحقیق نشان دهنده تاثیر شدید استرس در مادران باردار بر تکامل جنین به خصوص غده تیموس - که هدف تحقیق ما بود - می باشد. استرس های وارد شده در این تحقیق دارای جزء روانی قوی بود و از دسته استرس های روانی محسوب می شوند (۲). به طور کلی نتایج تحقیق ما نشان دهنده کاهش اندازه غده تیموس در جنین های مادران باردار بود. همچنین، تعداد اجسام هاسال موجود در تیموس جنین های موش های استرس دیده بسیار کمتر از تعداد آنها در جنین های مادران استرس ندیده بود. از سوی دیگر تحقیق ما نشان داد که شاخص های کمی رشد جنین مانند طول و وزن، در گروه های استرس دیده و کنترل تغییر معنی داری نداشت. به بیان دیگر، شاید بتوان گفت که این تحقیق نشان داد که ممکن است اثر استرس در برخی موارد کاملا بصورت اختصاصی بر قسمت های ویژه ای از سیستم ایمنی وارد شود. در همین زمینه تحقیقات زیادی وجود دارد که بر اختصاصی بودن اثر استرس و پاسخگوئی متفاوت موجودات بر اساس ژنتیک تاکید می کنند (۱۰). بنابر این نوع استرس

طول سری دمی جنین ها در گروه های کنترل و آزمایش برحسب میلی متر اندازه گیری شد و با مقایسه آنها مشخص گردید که در گروه های آزمایش کاهش معنی داری در طول سری دمی به نسبت گروه کنترل وجود ندارد (نتایج نشان داده نشده است).

بررسی میانگین طول غده تیموس در جنین های ۱۹ روزه گروه های کنترل و آزمایش: در هر دو گروه استرس (S1) و (S2) به نسبت گروه کنترل طول غده تیموس کاهش یافته بود که این کاهش در گروه استرس صدای ناگهانی (S1) به صورت معنی دار بوده است (نمودار ۱). در بررسی میانگین عرض غده تیموس، هر دو گروه استرس به نسبت گروه کنترل کاهش معنی داری دیده شد (نمودار ۲). همچنین، میانگین مساحت غده تیموس نیز در هر دو گروه استرس به نسبت گروه کنترل کاهش معنی داری دیده شد (نمودار ۳). از سوی دیگر، شمارش تعداد اجسام هاسال در این گروه ها نیز نشان داد که تعداد این اجسام در گروه های استرس دیده نسبت به گوه کنترل کاهش معنی داری پیدا کرده بودند (نمودار ۴).







تأثیر قرار می‌دهد تا بتوان تا حدودی به نقش این هورمون‌ها استناد کرد. استرس‌های وارد شده در این تحقیق به صورت غیرقابل پیش بینی به حیوانات وارد شد. مزیت این روش این است که پدیده انطباقی با استرس که از مهمترین خصوصیات موجودات زنده می‌باشد بوجود نمی‌آید. چرا که هر روز حیوانات در زمان متفاوت استرس را دریافت می‌کردند (۱). تأثیرات استرس بر سیستم داخلی بدن از طریق سیستم هورمونی و سیستم عصبی (سمپاتیک و پاراسمپاتیک) می‌باشد که این تأثیرات در دوران بارداری از طریق جفت بر جنین اعمال می‌شود. تأثیر الگوهای مختلف مانند تغذیه و خواب کافی بر رشد جنین در زندگی بعد از تولد ثابت شده است (۱۱-۱۳). در مورد استرس، در مطالعه‌ای نشان دادند فرزندان که در دوره جنینی در معرض استرس بودند، علائم کاهش وزن، تضعیف سیستم ایمنی، تغییر در ترشح نوروترانسمیترهائی نظیر دوپامین، سروتونین، گابا و نوراپی نفرین دیده می‌شود (۱۴).

نتایج این مطالعه نشان داد که تمام متغیرهای کمی مربوط به غده تیموس در جنین‌های مربوط به مادران در معرض استرس به مراتب از جنین‌های مربوط به مادران استرس ندریده کمتر بود. این امر بیان

به کار رفته در این تحقیق تأثیر متمایزی بر جنبه‌های مختلف تکوین جنین از خود نشان داد. باید توجه داشت که استرس‌های بکار رفته در این تحقیق از دسته استرس‌های ملایم محسوب می‌شوند. بنابر این با توجه به اثربخشی این استرس‌ها، به نظر می‌رسد که استرس‌های قوی‌تر احتمالاً اثرات بیشتری را در زمینه تغییرات رشد جنین‌ها از خود نشان خواهند داد.

از سوی دیگر به نظر می‌رسد که مراکز مرتبط با سیستم ایمنی بدن در هنگام تکوین، بیش از قسمت‌های دیگر بدن به تغییرات ایجاد شده در اثر استرس در بدن مادر حساسند. با توجه به اینکه استرس با فعال شدن مکانیسم‌های ضد استرسی در بدن همراه است، اینکه کدام مکانیسم باعث بروز پاسخ‌های دیده شده گردیده، مشخص نمی‌باشد (۱). همچنین با توجه به اینکه غلظت هورمون‌های استرسی مانند اپی نفرین و نوراپی نفرین، گلیکوکورتیکوئیدها و نیز پرولاکتین و انسولین در این آزمایش اندازه گیری نشده است، نمی‌توان به طور دقیق سهم هر هورمون را در پدیده دیده شده مشخص کرد. بنابراین تحقیقات بعدی باید در این زمینه باشد که استرس‌های وارد شده کدام یک از هورمون‌های فوق را بیشتر تحت

بررسی شود.

در نهایت، تحقیق حاضر اهمیت وجود استرس در کاهش رشد تیموس به عنوان یکی از مهمترین قسمت‌های دستگاه ایمنی را در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نشان داد، امری که ممکن است در مورد انسان‌ها نیز درست باشد. در هر حال، مطالعات آینده در نمونه‌های انسانی و حیوانی اهمیت یافته‌های حاضر را بیشتر عیان خواهد کرد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی مشترک معاونت پژوهش دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) و مرکز تحقیقات علوم رفتاری، پژوهشکده طب رزمی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) می‌باشد. نویسندگان بدینوسیله از تمامی این عزیزان نهایت تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA* 1992; 267: 1244-52.
2. McEwen BS. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res* 2000; 886: 172-89.
3. Ottenweller JE, Natelson BH, Pitman DL, Drastal SD. Adrenocortical and behavioral responses to repeated stressors: toward an animal model of chronic stress and stress-related mental illness. *Biol Psychiatry* 1989; 26: 829-41.
4. Ashwell JD., Lu FW, Vacchio MS. Glucocorticoids in T cell development and function. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 309-46.
5. Eskandari F, Sternberg EM. Neural-immune interactions in health and disease. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 966: 20-7.

کننده تأثیر پذیری ارگانهای مربوط به سیستم ایمنی جنین‌ها از استرس وارد شده به مادر- جدا از شدت استرس- می‌باشد. لازم به توضیح است که آزمایشات قبلی نشان داده اند که در هنگام القاء استرس سطح اپی نفرین و نوراپی نفرین و نیز کورتیکوسترون خود بالا می‌رود که می‌تواند با تنگ کردن عروق از جمله عروق جفتی منجر به کاهش خون‌رسانی به جنین شوند (۱۵). همچنین، این نوروترانسمیترها از طریق خون وارد بدن جنین می‌گردند و تأثیرات خاصی بر ارگان‌های داخلی جنین می‌گذارند و هرچه شدت این استرس‌ها بیشتر شود، تغییرات و تأثیرات آن بیشتر است بطوریکه در مطالعات قبلی مشاهده شده که در استرس‌های شدید متغیرهای کمی مانند قد و وزن جنین‌های مادران تحت استرسی هم به نسبت جنین‌های استرس ندیده کاهش معنی‌داری داشتند (۱۵). در این مطالعه دو نوع استرس صدای ناگهانی با شدت بیش از ۸۰ دسی بل و ممانعت از حرکت که دو نوع از استرس‌های روانی می‌باشند توانستند باعث بروز تغییرات میکروسکوپی در غده تیموس اعم از رشد و بلوغ غده (طول، عرض و مساحت غده و نیز تعداد اجسام‌ها سال) در جنین مادران باردار شوند. از بین این دو استرس، استرس ممانعت از حرکت بیشترین تأثیر را بر غده تیموس داشت.

در طی بلوغ غده تیموس در دوره جنینی فیبرهای عصبی سیستم اتونوم در این ارگان مشاهده می‌شوند که از طریق نورو ترانسمیتر این غده را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۷). استرس هم شاید از همین طریق تأثیرات خود را بر این غده در دوره رشد و نمو آن اعمال کرده است.

در مطالعه‌ای که آقای Zivkovic I و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام داد، نشان داده شد که استرس حتی بر روی موش بالغ (۹ هفته) توانسته است باعث کاهش حجم کورتکس و مدولای تیموس شود و همچنین بر بلوغ و تعداد لنفوسیت‌های نوع T هم اثر کاهنده داشته باشد (۱۶). در همخوانی با این گزارش، ما نیز در این مطالعه تأثیر استرس اعمال شده در مادر در زمان بارداری را بر عدم تکامل تیموس جنین مشاهده کردیم. البته بایستی متذکر شد که در این مطالعه ما قادر به تمایز کورتکس و مدولای جنین‌ها نبودیم، بنابراین پیشنهاد می‌کنیم که در تحقیقات بعدی این امر با مطالعه تیموس جنین‌هایی که متولد شده و مدت زمانی نیز پس از تولد رشد کرده‌اند،

- concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiol* 2005; 52: 90–110.
13. Harding JE. The nutritional basis of the fetal origins of adult disease. *Int J Epidemiol* 2001; 30: 15-23.
 14. Zivković IP, Rakin AK, Petrović-Djergović DM, Kosec DJ, Mičić MV. Exposure to forced swim stress alters morphofunctional characteristics of the rat thymus. *J Neuroimmunol* 2005; 60: 77-86.
 15. Wommack JC, Delville Y. Stress, aggression, and puberty: neuroendocrine correlates of the development of agonistic behavior in golden hamsters. *Brain Behav Evol* 2007; 70: 267–73.
 16. Zivković I, Rakin A, Petrović-Djergović D, Miljković B, Mičić M. The effects of chronic stress on thymus innervation in the adult rat. *Acta Histochem* 2005; 106: 449-58.
 6. Magarinos AM, Estivariz F, Morado MI, De Nicola AF. Regulation of the central nervous system–pituitary–adrenal axis in rats after neonatal treatment with monosodium glutamate. *Neuroendocrinology* 1988; 48: 105–1.
 7. Picker LJ, Siegelman MH. Lymphoid tissues and organs. In: Paul WE. *Fundamental Immunology*. 4th ed New York, Lippincott-Raven; 1999, PP: 479-531.
 8. van Ewijk W. Immunohistochemistry of lymphoid and non lymphoid cells in the thymus in relation to T lymphocyte differentiation. *Amer J Anat* 1984; 170: 311–30.
 9. Schuurman H-J, Van Loveren H, Rozing J, Vos JG. Chemicals trophic for the thymus: Risk for immunodeficiency and autoimmunity. *Int J Immunopharmacol* 1992; 14: 369–75.
 10. Ising M, Holsboer F. Genetics of stress response and stress-related disorders. *Dialogues Clin Neurosci* 2006; 8: 433–44.
 11. Jondal M, Pazirandeh A, Okret S. Different roles for glucocorticoids in thymocyte homeostasis. *Trends in Immunol* 2004; 25: 565-600.
 12. Willner P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural–neurobiological