

اثر استرس بی‌ثباتی و اکسی‌توسین‌آگزورژن بر تعداد سلول‌های کشنده طبیعی در خون محیطی و طحال در رت‌های نر

نویسندگان: زهرا امید^۱، محمدرضا واعظ مهدوی^{۲*}، محمد وجگانی^۳، طوبی
غضنفری^۴، نیره عسکری^۵، مرضیه اقتداردوست^۴

۱. گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی شاهد، تهران، ایران
۲. گروه فیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳. گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴. مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۵. گروه فیزیولوژی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

* نویسنده مسئول: محمدرضا واعظ مهدوی E-mail: Mh_mahdavi@yahoo.com

چکیده

مقدمه و هدف: استرس‌های اجتماعی با تأثیر بر سیستم ایمنی و ویژگی‌های فیزیولوژیک اندام‌ها، طیف وسیعی از اختلالات و نیز نارسایی‌های سایکوپاتولوژیکال از جمله افسردگی و اضطراب را به دنبال می‌آورند. هورمون اکسی‌توسین که در سیستم عصبی مرکزی و برخی بافت‌ها تولید می‌شود، در کاهش اضطراب و افسردگی ناشی از استرس نقش دارد. همچنین استرس‌های اجتماعی بر لنفوسیت‌های کشنده طبیعی سیستم ایمنی ذاتی که نقش مهمی در دفاع در برابر تومورها و عفونت‌های ویروسی دارند؛ اثر می‌گذارند. هدف از این مطالعه بررسی اثر استرس بی‌ثباتی و اکسی‌توسین برون‌زاد بر تعداد سلول‌های کشنده طبیعی در رت‌های مواجهه یافته با این استرس است.

مواد و روش‌ها: رت‌های Wistar به مدت ۲۱ روز در تماس با استرس بی‌ثباتی بودند به طوری‌که هم‌خانه آن‌ها هر سه روز یکبار عوض می‌شد و از روز ۱۱ ام یک گروه از رت‌ها ۲۰ میکرولیتر و گروه دیگر ۴۰ میکرولیتر اکسی‌توسین با غلظت 1mg/ml و یک گروه کنترل نرمال سالیان به صورت تزریق اینترانازال دریافت کردند و یک گروه کنترل سالم بدون هیچ‌گونه تزریق وجود داشت. در پایان مطالعه حیوان‌ها بی‌هوش شده و کشته شدند. نمونه خون محیطی و بافت طحال جمع‌آوری شد و تعداد سلول‌های NK با روش فلوسایتومتری توسط دو مارکر CD3-CD161+ شمارش شد.

نتایج: تعداد سلول‌های NK در خون محیطی در گروه‌های استرس بی‌ثباتی و تیمار شده با دوزهای ۲۰ و ۴۰ میکرولیتر با اکسی‌توسین به ترتیب (۴/۴±۰/۹، ۳/۶±۱/۸) نسبت به گروه کنترل سالم (۴/۵±۲/۱) تفاوت معنی‌داری نداشت. در طحال تعداد سلول‌های NK در گروه استرس بی‌ثباتی تیمار شده با دوزهای ۲۰ و ۴۰ میکرولیتر به ترتیب (۴/۴±۱/۶، ۴/۷±۱/۱) بود که نسبت به گروه کنترل سالم (۲/۲±۰/۶) افزایش معنی‌دار داشت. (Pvalue=0/025 Pvalue=0/008)

نتیجه‌گیری: استرس بی‌ثباتی به همراه تیمار با دوز ۲۰ و ۴۰ میکرولیتر اکسی‌توسین موجب افزایش تعداد لنفوسیت‌های NK در طحال رت‌ها می‌شود که در واقع نشان می‌دهد که این اثر هم‌افزایی سیستم ایمنی را در یک حالت آماده‌باش برای مقابله با عفونت‌ها و سرطان قرار می‌دهد.

واژگان کلیدی: استرس بی‌ثباتی، سلول کشنده طبیعی، اکسی‌توسین

دانشور

پزشکی

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌وششم-شماره ۱۳۸
دی ۱۳۹۷

دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۲۱
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۷/۱۰/۰۲
پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱۰

مقدمه

ذاتی هستند که در دفاع اولیه میزبان علیه سرطان و عفونت‌های ویروسی نقش بسیار مهمی دارند. این سلول‌ها در فاز اولیه عفونت بدون حساسیت و فعال شدن قبلی از طریق پرفورین و گرآنزیم و ترشح سایتوکاین‌های $TNF-\alpha$, $IFN-\gamma$ موجب کشندگی سلول‌های عفونی می‌شوند. عملکرد این سلول‌ها از طریق تعادل بین سیگنال گیرنده‌های مهارتی و تحرکی تنظیم می‌شود (۸-۱۰). این سلول‌ها نیز مانند سایر سلول‌های ایمنی در شرایط مختلف دستخوش تغییرات می‌شوند از جمله شرایطی که می‌تواند بر روی این سلول‌ها اثر بگذارد استرس مزمن است (۸).

ترکیباتی مثل هورمون‌ها و پپتیدها از جمله اکسی توسین می‌توانند با داشتن اثرات مهارتی بر فعالیت محور HPA و اثرات ضد استرسی اثرات سوء استرس را کاهش داده و همچنین به عنوان درمان نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۱). اکسی توسین یک نوروپپتید ۹ اسیدآمینوایی است که در طیف گسترده‌ای از رفتارهای اجتماعی متنوع در گونه‌های مختلف دخالت دارد اکسی توسین توسط سلول‌های عصبی ترشح‌کننده بزرگ هسته‌های supraoptic, paraventricular در هیپوتالاموس تولید می‌شود نقش اکسی توسین در حافظه، افسردگی، اضطراب و ترس مشخص شده است و مطالعات نشان می‌دهند که اکسی توسین می‌تواند باعث کاهش رفتارهای اضطرابی و افسردگی شوند (۱۲-۱۴).

نقش اکسی توسین در سیستم ایمنی نیز حائز اهمیت است یکی از عملکردهای آن در سیستم ایمنی داشتن خاصیت ضدالتهابی است که می‌تواند پاسخ‌های التهابی را کاهش دهد (۱۵). با این وجود نقش آن بر سلول‌های NK مشخص نشده است. برخی مطالعات اثر استرس مزمن بر سلول‌های NK را نشان می‌دهند که در برخی تعداد و فعالیت این سلول‌ها کاهش و در برخی مطالعات دیگر افزایش داشته است. در مطالعه Andrew مدل استرس اجتماعی SDR موجب افزایش تعداد و فعالیت NK می‌شود (۸). مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۵ توسط

استرس به‌طورکلی به عنوان رویدادی فیزیکی، اجتماعی و روان‌شناختی واقعی یا ذهنی و یا محرکی که موجب تحریک فیزیولوژیک و برانگیخته شدن مکانیسم‌های متعدد بیولوژیک برای غلبه بر حالت غیرطبیعی و در نهایت پیدایش پاسخ‌های عمومی و اختصاصی در فرد است، گفته می‌شود با توجه به تخصص سایکونورویمونولوژی استرس به عنوان رویدادهای زیست‌محیطی (واقعی یا درک شده) که تعادل و هم‌نوستان فیزیولوژیک و سایکولوژیک را تحریک می‌کند تعریف می‌شود (۱) یک عامل استرس‌زا (stressor) به عنوان یک تهدید علیه هم‌نوستان بدن تعریف می‌شود. و پاسخ‌ها علیه آن بر اساس ماهیت استرسور (نوع، شدت و تکرار) و فاکتورهای فردی مثل (آسیب‌پذیری-ثبات عاطفی و روش‌های مقابله) متفاوت است استرس مزمن به عنوان استرسی که چندین ساعت در روز یا روزها و ماه‌ها طول می‌کشد تعریف می‌شود و فرد در تماس طولانی‌مدت و تکراری با محرک است (۲-۳). استرس مزمن در قالب‌های گوناگون از جمله استرس اجتماعی، انزوای اجتماعی، اضطراب، افسردگی، شکست‌های اجتماعی، نزاع و جنگ، خشونت و ... می‌تواند تأثیرگذار باشد و باعث ایجاد تغییراتی در فرد شود تعاملات اجتماعی به عنوان یکی از مهم‌ترین منابع استرس مزمن برای جمعیت‌های اجتماعی از جمله انسان‌ها و نیز جوامع حیوانی است (۴، ۵، ۶). در دهه‌های گذشته مدل‌های حیوانی زیادی برای مطالعه آن پیشرفت کرده‌اند. استرس اجتماعی احتمالاً یکی از استرسورهای پرخطر در انسان‌ها و حیوانات اجتماعی است (۱) یکی از مکانیسم‌های گسترده در استرس فعال شدن مسیر هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال است (HPA) که منجر به تولید هورمون‌های استرسی کورتیزول در انسان و کورتیکوسترون در جوندگان می‌شود که اثرات خود را بر سیستم‌های بیولوژیک از جمله سیستم ایمنی می‌گذارند (۶-۷). سلول‌های کشنده طبیعی (Natural killer cells) یکی از مهم‌ترین سلول‌های سیستم ایمنی

گرفتند به طوری که هر سه روز یکبار هم‌خانه آن‌ها عوض می‌شد و از روز ۱۱ام میزان ۴۰ میکرولیتر اکسی‌توسین با غلظت 1mg/ml به صورت تزریق اینترانازال دریافت کردند.

گروه چهارم: گروه کنترل که هم‌خانه آن‌ها تا آخر دوره استرس ثابت بود و نرمال سالین به صورت تزریق اینترانازال دریافت کردند. (کنترل سالین)

گروه پنجم: گروه کنترل که هم‌خانه آن‌ها تا آخر دوره استرس ثابت بود و ۲۰ میکرولیتر اکسی‌توسین به صورت تزریق اینترانازال دریافت کردند. (کنترل اکسی‌توسین ۱)

گروه ششم: گروه کنترل که هم‌خانه آن‌ها تا آخر دوره استرس ثابت بود و ۴۰ میکرولیتر اکسی‌توسین به صورت تزریق اینترانازال دریافت کردند. (کنترل اکسی‌توسین ۲)

گروه هفتم: گروه کنترل که هم‌خانه آن‌ها تا آخر دوره استرس ثابت بود و هیچ گونه تزریقی نداشتند. (کنترل سالم)

جمع‌آوری نمونه

بعد از پایان دوره‌ی استرس رت‌ها با دی‌اتیل اتر بی‌هوش شده و میزان 5ml خون از قلب گرفته شد و طحال نیز به روش استریل جدا گردید و در لوله فالكون حاوی محیط RPMI استریل قرار داده شد.

جداسازی سلول‌های طحال و شمارش سلول‌های NK با روش فلوسایتومتری

بافت طحال به صورت استریل جدا گردید و در لوله فالكون استریل حاوی محیط RPMI1640 قرار گرفت و بعد از انتقال بافت طحال در پتری‌دیش با استفاده از سرنگ، مقداری محیط RPMI1640 در آن تزریق شد و هم‌زمان با نوک پنس بافت کوبیده شد و سپس سوسپانسیون سلولی حاصله سانتریفیوژ شد و بعد از اضافه کردن مقدار مناسب از لایزیز بافر سلول‌های طحال جدا شد و در PBS شمارش شد و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سلول‌های طحال که حاوی 1×10^6 سلول بود با استفاده از دو مارکر سطحی AntiCD3, AntiCD161 کونژوگه شده با فلوکروم‌های FITC و APC خریداری شده

Houdiandong نشان داد که تعداد و عملکرد NK در استرس مزمن کاهش یافته است (۹).

با توجه به مطالعات و عدم گزارش‌ها یکسان از اثرات استرس مزمن بر تعداد و فعالیت سلول‌های NK هدف از این مطالعه بررسی اثر استرس مزمن اجتماعی (بی‌ثباتی) و اکسی‌توسین بر تعداد سلول‌های NK در خون و طحال در رت‌های مواجهه یافته با استرس است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی ۳۵ سر رت نر wistar با سن ۸-۶ هفته با متوسط وزن ۱۸۰-۲۲۰ گرم از انستیتو پاستور کرج خریداری شد و حیوانات در حیوان‌خانه با شرایط استاندارد (دوری از صدا، دمای ۲۵ درجه، رطوبت مناسب، دور از هرگونه استرس و ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) و با رعایت اصول اخلاقی نگهداری شدند. یک هفته قبل از شروع مطالعه رت‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند و هرروز چک می‌شدند. قبل از شروع مطالعه رت‌ها وزن شدند و سپس وارد دوره استرس شدند به گونه‌ای که به مدت ۲۱ روز تحت استرس بی‌ثباتی قرار گرفتند به طوری که هر سه روز یکبار هم‌خانه آن‌ها عوض می‌شد و در روز ۱۱ام به مدت ۱۰ روز به صورت تزریق اینترانازال اکسی‌توسین دریافت کردند. در این مطالعه رت‌ها به ۷ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. این مطالعه به تصویب کمیته‌ی اخلاق پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه شاهد با کد کمیته‌ی اخلاق IR.SHAHED.REC.1397.061 رسیده است.

گروه اول: گروهی که تحت استرس بی‌ثباتی قرار گرفتند به طوری که هر سه روز یکبار هم‌خانه آن‌ها عوض می‌شد و هیچ گونه ماده‌ای دریافت نکردند.

گروه دوم: گروهی که تحت استرس بی‌ثباتی قرار گرفتند به طوری که هر سه روز یکبار هم‌خانه آن‌ها عوض می‌شد و از روز ۱۱ام میزان ۲۰ میکرولیتر اکسی‌توسین با غلظت 1mg/ml به صورت تزریق اینترانازال دریافت کردند.

گروه سوم: گروهی که تحت استرس بی‌ثباتی قرار

آنالیز آماری

نتایج آزمایش توسط نرم‌افزار SPSS ارزیابی شد برای مقایسه گروه‌ها از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد و $pvalue < 0.05$ به منزله اختلاف معنی‌دار بین دو گروه در نظر گرفته شد.

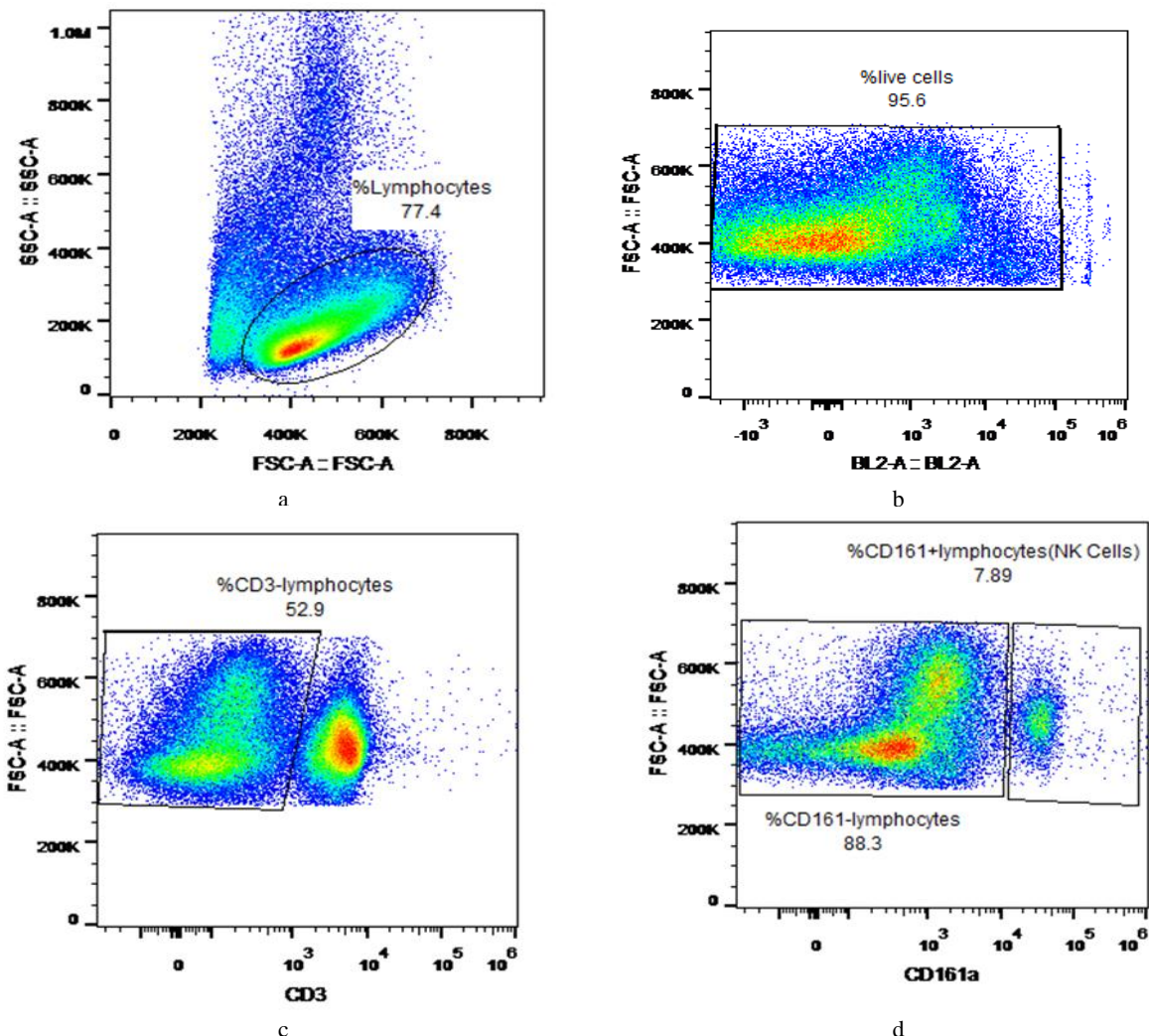
یافته‌ها

نتایج مربوط به شمارش سلول‌های NK با فلوسیتومتری آنتی‌بادی‌های مورد استفاده APC Mouse Anti-Rat FITC Mouse، APC Mouse IgM، κ Isotype Control، CD3 Anti-Rat CD161a از شرکت BD تهیه شد. در شکل ۱ نحوه gating و به دست آوردن درصد سلول‌های NK با نرم‌افزار FlowJo نشان داده شده است.

از شرکت BD توسط دستگاه فلوسایتومتر مدل ATON NXT شمارش شد و نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار فلوجو بررسی شد.

شمارش سلول‌های NK خون با روش فلوسایتومتری نمونه خون قلب در لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA قرار گرفت و به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از آن‌که معادل ۱۰۶ سلول بود، آنتی‌بادی‌های AntiCD3، AntiCD161 کونزوگه شده با فلوکروم‌های FITC و APC اضافه شد و بعد از لیزکردن گلبول‌های قرمز تعداد سلول‌های NK در خون محیطی توسط دستگاه فلوسایتومتر مدل ATON NXT شمارش شد و نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار فلوجو بررسی شد.

شکل ۱. نحوه gating و به دست آوردن درصد سلول‌های NK با نرم‌افزار FlowJo.



گردید (شکل 1-b)، سپس جمعیت لنفوسیت های CD3- جدا شد (شکل 1-c) و در نهایت درصد سلول های NK(CD3-,CD161a+) مشخص شد (شکل 1-d).

در شکل بالا ابتدا براساس forward scatter و side scatter جمعیت لنفوسیت ها gate شد (شکل 1-a)، بعد جمعیت لنفوسیت های زنده در کانال BL2-A مشخص

جدول-1. میانگین درصد و انحراف معیار سلول های NK در خون و طحال در گروه های مختلف مطالعه.

گروه ها	میانگین درصد در خون NK	انحراف معیار خون (SD)	میانگین درصد NK در طحال	انحراف معیار (SD) طحال	P- value1	P- value2
کنترل (بدون استرس و تیمار)	۴.۵	۲.۱	۲.۲	۰.۶		
کنترل (دریافت سالیین)	۷.۴	۵.۰	۱.۹	۱.۵		
کنترل (بدون استرس- دوز ۲۰ میکرولیتر اکسی توسین)	۳.۶	۱.۹	۳.۳	۰.۴		
کنترل (بدون استرس- دوز ۴۰ میکرولیتر اکسی توسین)	۳.۵	۱.۷	۲.۷	۰.۶		
استرس بی ثباتی	۵.۷	۲.۸	۳.۹	۱.۰		
استرس بی ثباتی- دوز ۲۰ میکرولیتر اکسی توسین	۳.۶	۱.۸	۴.۴	۱.۶	۰.۰۳۵	۰.۰۲۵
استرس بی ثباتی- دوز ۴۰ میکرولیتر اکسی توسین	۴.۴	۰.۹	۴.۷	۱.۱	۰.۰۱۳	۰.۰۰۸

نتایج حاصل از بررسی فلوسایتومتری نشان می دهد درصد سلول های NK در خون در گروه های مختلف مطالعه تفاوت معنی دار ندارد ولی درصد سلول های NK در طحال در گروه استرس بی ثباتی نسبت به کنترل سالم افزایش دارد که معنی دار نیست ولی در گروه های استرسی که دو دوز ۲۰ و ۴۰ میکرولیتر اکسی توسین دریافت کردند نسبت به کنترل سالم و کنترل سالیین افزایش معنی دار دارد.

میانگین درصد سلول های NK در خون محیطی در گروه های استرس بی ثباتی و گروه های تیمار شده با اکسی توسین با گروه های کنترل تفاوت معنی داری نداشت ($P\text{-value} > 0.05$). در طحال در گروه های تیمار شده با اکسی توسین در دو دوز ۲۰ و ۴۰ میکرولیتر نسبت به گروه های کنترل سالیین و کنترل سالم افزایش معنی داری داشت. ($P\text{-value} < 0.05$).

* P-value1 اختلاف معنی دار بین گروه های استرسی تیمار شده با اکسی توسین نسبت به کنترل سالیین را نشان می دهد و P-value2 اختلاف معنی دار بین گروه های استرسی تیمار شده با اکسی توسین نسبت به کنترل سالم را نشان می دهد.

بحث

هورمون‌های استرسی از مسیر دیگری سلول NK را تحت تأثیر قرار می‌دهد همچنین شاید بتوان گفت اکسی توسین اثری شبیه استرس بر سلول NK می‌گذارد و با اینکه هورمون کورتیکوسترون را کاهش می‌دهد اما نمی‌تواند از طریق کورتیکوسترون بر سلول NK اثر گذارد.

مطالعه Houdiandong نشان داد که در استرس مزمن ناشی از شنای اجباری تعداد سلول‌های NK در خون در گروه تحت استرس نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است (۹). علت تفاوت با مطالعه ما می‌تواند نوع استرسی باشد که به حیوان وارد شده است همچنین تیمار با اکسی توسین نیز می‌تواند بر این تفاوت اثر گذاشته باشد. همچنین مطالعه‌ی دیگری نشان داد که تعداد سلول‌های NK در استرس مزمن ناشی از حضور یک مزاحم در قلمرو زندگی در ریه افزایش، در طحال کاهش و در خون بدون تغییر است. که این با نتایج به‌دست‌آمده از خون در مطالعه ما هماهنگ است ولی با نتایج به‌دست‌آمده از طحال متفاوت است که تفاوت در نوع استرس و تزریق اکسی توسین می‌تواند موجب تفاوت در نتیجه ما و این مطالعه شده باشد (۸).

Alexander و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثر استرس اجتماعی دوران بارداری را در فرزندان نر با زندگی پر از استرس بر تعداد سلول‌های NK در رت در ۱۰۰ روز متوالی بررسی کردند. نتایج به‌دست‌آمده از فلوسایتومتری نشان می‌دهد که تعداد NK در فرزندان که تحت استرس بارداری بودند کمتر از آن‌هایی است که مادرشان استرس بارداری نداشتند و همچنین تعداد NK در گروه مواجه یافته با استرس اجتماعی هم در گروهی که استرس بارداری داشتند و هم در آن‌هایی که نداشتند کاهش یافته است. تفاوت این مطالعه با مطالعه ما در این است که چون گروه تحت استرس یک متغیر دیگر مثل بارداری را دارند این می‌تواند در نتایج به‌دست‌آمده تأثیرگذار باشد همچنین طول مدت استرس در این مطالعه چندین برابر طول مدت استرس در مطالعه ما است که خود نیز می‌تواند یک فاکتور مهم در نتایج

سلول‌های NK جزئی از لنفوسیت‌های ایمنی ذاتی هستند که نقش مهمی در دفاع اولیه میزبان علیه سلول‌های عفونی و توموری دارند. این سلول‌ها در گردش خون در حالت استراحت هستند و وقتی توسط سایتوکاین‌ها فعال می‌شوند به بافت‌های عفونی و توموری مهاجرت کرده و بدون تحریک اولیه توسط پرفورین-گراگزیم موجب کشندگی سلول هدف می‌شوند (۱۶).

استرس مزمن از جمله فاکتورهایی است که می‌تواند سیستم ایمنی را دستخوش تغییرات کند. استرس مزمن می‌تواند اثرات سوئی بر سیستم‌های فیزیولوژیک از طریق تماس طولانی‌مدت با کاتل امین و گلوکوکورتیکوئیدها داشته باشد. استرس مزمن می‌تواند برخی پارامترهای سیستم ایمنی سلولی از جمله تکثیر لنفوسیت‌های T را کاهش دهد (۹). همچنین استرس مزمن اجتماعی ناشی از بی‌ثباتی و محرومیت غذایی می‌تواند سایتوکاین‌های التهابی مثل IL-1 و TNF را افزایش می‌دهد (۱۷).

مطالعه ما نشان داد که در استرس مزمن اجتماعی (بی‌ثباتی اجتماعی) تعداد سلول‌های NK در خون محیطی در گروه‌های استرس و تیمار شده با اکسی توسین نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌دار نداشت. ولی در طحال در گروه‌های استرس تیمار شده با دو دوز ۲۰ و ۴۰ میکرولیتر اکسی توسین تعداد سلول‌های NK نسبت به گروه‌های کنترل و کنترل سالین افزایش معنی‌دار داشت. همچنین اکسی توسین به‌تنهایی نیز در این گروه‌ها در خون و طحال بر تعداد سلول‌های NK اثر معنی‌دار نداشت ولی وقتی با استرس همراه شد موجب افزایش معنی‌دار در تعداد NK در طحال شد. نکته جالب در این مطالعه این است که اکسی توسین میزان کورتیکوسترون را کاهش داده است اما تزریق آن در گروه‌های استرسی موجب کاهش NK نشده است و نتوانسته اثر استرس را بر سلول NK تغییر دهد و این نشان می‌دهد احتمالاً استرس علاوه بر مسیرهای HPA و

ایمنی را در سطح سلول NK در یک حالت آماده‌باش قرار می‌دهد و این افزایش تعداد احتمالاً بتواند در این شرایط یک خاصیت ضد باکتریایی و ویروسی در سلول ایجاد کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد است و با حمایت مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی انجام شده است.

منابع

1. Sedighi GE, Riazi GH, Mahdavi MRV, Cheraghi T, Atarod D, Rafiei S. Chronic, long-term social stress can cause decreased microtubule protein network activity and dynamics in cerebral cortex of male Wistar rats. *Journal of Molecular Neuroscience* 2015;55(3):579-86.
2. Yang H-P, Wang L, Han L, Wang SC. Nonsocial functions of hypothalamic oxytocin. *ISRN Neurosciences* 2013;2013.
3. Pittman QJ. A neuro-endocrine-immune symphony. *Journal of Neuroendocrinology* 2011;23(12):1296-7.
4. Heidary F, Mahdavi MRV, Momeni F, Minaii B, Rogani M, Fallah N, et al. Food inequality negatively impacts cardiac health in rabbits. *PloS one* 2008;3(11):e3705.
5. Brosnan SF. Nonhuman species' reactions to inequity and their implications for fairness. *Social Justice Research* 2006;19(2):153-85.
6. Okuneva V, Zhvania M, Japaridze N, Gelazonia L, Lordkipanidze T. Stress-system: corticotropin-releasing hormone and catecholamines. *Georgian Medical News* 2009(172-173):65-9.
7. Suliman Khanfer R. Psychological stress and neutrophil function: University of Birmingham 2011.
8. Tarr AJ, Powell ND, Reader BF, Bhawe NS, Roloson AL, Carson 3rd WE, et al. β -Adrenergic receptor mediated increases in activation and function of natural killer cells following repeated social disruption. *Brain, Behavior, and Immunity* 2012;26(8):1226-38.

به‌دست‌آمده از استرس باشد (۱۸).

نتیجه‌گیری

استرس بی‌ثباتی موجب افزایش تعداد سلول‌های NK در طحال شده است که وقتی اکسی‌توسین تزریق شده است این افزایش معنی‌دار شده است و استرس و اکسی‌توسین هر دو به صورت هم‌افزایی موجب افزایش تعداد سلول NK شده‌اند همچنین نوع بافتی که سلول NK در آن بررسی شده است یعنی خون و طحال دارای ریز محیط‌های متفاوتی هستند که اثراتی که از استرس می‌گیرند را متفاوت می‌کند می‌توان به این نتیجه رسید که این شرایط استرسی همراه با اکسی‌توسین سیستم

9. Diandong H, Feng G, Zaifu L, Helland T, Weixin F, Liping C. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) oil protects against chronic stress-induced inhibitory function of natural killer cells in rats. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology* 2016;29(1):76-83.
10. Poli A, Brons NH, Ammerlaan W, Michel T, Hentges F, Chekenya M, et al. Novel method for isolating untouched rat natural killer cells with higher purity compared with positive selection and fluorescence-activated cell sorting. *Immunology* 2010;131(3):386-94.
11. Mantella RC. *The Role of Oxytocin in the Stress and Anxiety Response*: University of Pittsburgh 2005.
12. Murgatroyd CA, Hicks-Nelson A, Fink A, Beamer G, Gurel K, Elnady F, et al. effects of chronic social stress and Maternal intranasal Oxytocin and Vasopressin on Offspring interferon- γ and Behavior. *Frontiers in Endocrinology* 2016;7:155.
13. MacDonald K, MacDonald TM. The peptide that binds: a systematic review of oxytocin and its prosocial effects in humans. *Harvard Review of Psychiatry* 2010;18(1):1-21.
14. Smith AS, Wang Z. Salubrious effects of oxytocin on social stress-induced deficits. *Hormones and Behavior* 2012;61(3):320-30.

15. Wang P, Yang H-P, Tian S, Wang L, Wang SC, Zhang F, et al. Oxytocin-secreting system: A major part of the neuroendocrine center regulating immunologic activity. *Journal of Neuroimmunology* 2015;289:152-61.
16. Orange JS, Ballas ZK. Natural killer cells in human health and disease. *Clinical immunology* 2006;118(1):1-10.
17. Aghajani M, Mahdavi V, Reza M, Ghazanfari T, Khalili M, Azimi A, et al. Effects of social stress on pain behavior, immune cells and serum concentrations of TNF- α , Interleukin-1 and Interleukin-6 in female mice. *Physiology and Pharmacology* 2012;15(4):545-61.
18. Götz AA, Wittlinger S, Stefanski V. Maternal social stress during pregnancy alters immune function and immune cell numbers in adult male Long-Evans rat offspring during stressful life-events. *Journal of Neuroimmunology* 2007;185(1-2):95-102.

Daneshvar
Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
26th Year, No.138
December-January
2018-2019*

Received: 13/10/2018

Last revised: 23/12/2018

Accepted: 31/12/2018

The effect of instability stress and exogenous oxytocin on the number of the natural killer cells in peripheral blood and spleen in male rats

Zahra Omidi¹, Mohammad Reza VaezMahdavi^{2*}, Mohammad Vojgani³, Tooba Ghazafari⁴, Nayere Askari⁵, Marzieh Eghtedar Doost⁴

1. Medical Faculty, Shahed University, Tehran, Iran.
2. Department of Physiology, Medical Faculty, Shahed University, Tehran, Iran.
3. Department of Immunology, Medical Faculty, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4. Immunoregulation Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.
5. Department of Physiology, Faculty of Basic Sciences, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran.

* Corresponding author E-mail: Mh_mahdavi@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Social stresses which affect the immune system and the physiological features of the organs, cause a range of disorders, as well as psychopathological deficits such as depression and anxiety. The oxytocin hormone which is produced in the central nervous system and some tissues plays an important role in reducing anxiety and depression caused by stress. Also, social stress affects the natural killer lymphocytes of the innate immune system that play an important role in defense against tumor and viral infections. The purpose of this study was to investigate the effect of unstable stress and extracellular oxytocin on the number of natural killer cells in rats exposed to this stress.

Materials and Methods: Wistar rats were subjected to instability stress for 21 days, hence their cage-mate were changed every three days. From the 11th day, a group of rats received 20 microliter and the other group received 40 microliter of 1 mg/ml oxytocin and the control group received normal saline by intranasal rout and there was a healthy control group without any injections. At the end of study, the animals were anesthetized and then were killed. Blood sample and spleen tissue were obtained and the number of NK cells was counted by flow cytometry with CD3-CD161+ markers.

Results: The number of NK cells in peripheral blood in the instability stress groups treated with 20 and 40 μL doses of oxytocin (3.6 ± 1.8 , 4.4 ± 0.9) compared with healthy controls (4.5 ± 2.1) did not have a significant difference. In the spleen, the number of NK cells in the instability stress group treated with doses of 20 and 40 μL was (4.4 ± 1.6 , 4.7 ± 1.1), which was significantly higher than the control group (2.2 ± 0.6) (P value = 0.025 and P value = 0/008, respectively).

Conclusion: Instability stress combined with treatment with 20 and 40 μL of oxytocin increases the number of NK lymphocytes in the spleen of the rats, which in fact indicates that this synergistic effect puts the immune system in a precautionary state to confront infections and cancer.

Keywords: Instability stress, Natural killer cell, Oxytocin