

Delay of wound healing in stressed Balb/c mice

Shirzad H¹, Rafieian M^{2*}

1-Cell and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

2- Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Received 25 June 2011, Accepted 17 Aug 2011

Abstract

Background: Stress gradually makes immune system weak and suppresses it, therefore makes body susceptible to various types of diseases, and may delay the healing of the wound. The aim of this study was to show the effects of cold and immobilization stresses on wound healing in Balb/c mice.

Materials and Methods: In an interventional study 30 female Balb/c mice were divided into 3 groups randomly. First and second groups were exposed to cold and immobilization stresses respectively and third group (control group) left with no stress. Wound healing was checked every other day and compared with each other.

Results: Results showed that the mean of wound sizes of stressed groups was bigger than control group ($p < 0.05$). The wounds healing duration was 11 days in control group and 15 days in test groups.

Conclusions: Stress has negative effect on wound healing, therefore a peaceful and calm environment is recommended for patients with serious injuries.

Keyword: Immune System, Stress, Wound, Wound Healing

*Corresponding author:

Address: Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences,
Shahrekord, Iran

Email: rafieian@yahoo.com

تأثیر استرس بر روند بهبود زخم در موش های بلب سی

هدایت اله شیرزاد¹، محمود رفیعیان^{2*}

1- دانشیار، دکترای ایمونولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
2- استاد، دکترای فارماکولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، رحمتیه، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: 90/4/4، تاریخ پذیرش: 90/5/26

چکیده

زمینه و هدف: استرس به تدریج سیستم ایمنی را تضعیف و بدن را مستعد ابتلا به انواع بیماری ها می کند و ممکن است ترمیم زخم را نیز به تعویق اندازد. در این مطالعه تأثیر استرس های سرما و بی حرکتی بر بهبود زخم در موش های بلب سی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه مداخله ای، تعداد 30 سر موش بلب سی ماده به طور تصادفی در 3 گروه ده تایی به شرح زیر قرار گرفتند. گروه اول روزانه با استرس سرما و گروه دوم با استرس بی حرکتی مواجه شدند و گروه سوم (گروه کنترل) بدون مداخله نگه داشته شدند. بهبودی زخم ها در هر گروه هر دو روز یک بار بررسی و با یکدیگر مقایسه شدند. اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمون تی مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: میانگین اندازه زخم در گروه موش های تحت استرس در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بود ($p < 0/05$). کلیه زخم ها در موش های گروه کنترل در روز یازدهم بهبود یافتند ولی در موش های تحت استرس بی حرکتی و سرما تا روز پانزدهم ادامه داشتند.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان دهنده تأثیر منفی استرس بر بهبود زخم بوده، لذا توصیه می شود که در کنار توجهات پزشکی سعی شود به فضای روانی بیماران دچار زخم های شدید توجه بیشتری مبذول گردد.

واژگان کلیدی: استرس، بهبود زخم، زخم، سیستم ایمنی

*نویسنده مسئول: شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

مقدمه

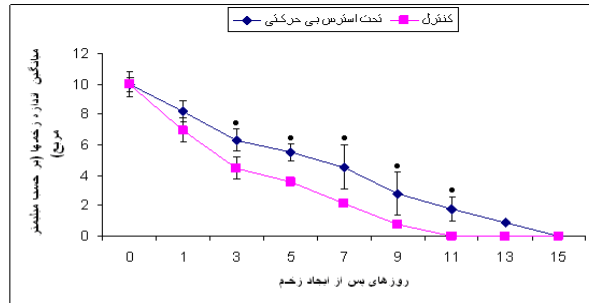
اعصاب به صورت مستقیم یا غیر مستقیم عمل سلول های سیستم دفاعی بدن را تحت تاثیر قرار می دهد و مغز از طریق مسیر هایی از جمله کنترل جریان خون، حرارت، اکسیژن رسانی و یا تولید هورمون های هایپرتروفیک بر سیستم ایمنی تأثیر می گذارد. استرس نیز از طریق تداخل سیستم عصبی مرکزی و یا از طریق راه های عصب-هورمون بر سیستم دفاعی اثر می گذارد. برای مثال ترشح کاتکول آمین ها، کورتیزول و پرولاکتین با تغییراتی در سیستم ایمنی همراه هستند. سیستم ایمنی با دو مکانیسم همورال و سلولار بدن را در مقابل عوامل متعددی از جمله بیماری های عفونی محافظت می کند. هر دو مکانیسم به وسیله عوامل استرس زا تغییر پذیرند و بین افزایش کورتیزول و مهار ایمنی ارتباط وجود دارد (3-1). هورمون های جنسی نقش مهمی در بهبود زخم داشته و جنس مونث، از بهبودی بیشتر زخم سود برده و ترمیم پوستی سریع تری دارند (4) به علاوه پروژسترون و استروژن بر پیشرفت التهاب موثر بوده و با افزایش فعالیت ماکروفاژها بر بهبود زخم موثرند (5). مطالعات نشان داده اند که بیان mRNA فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروپین در هسته های پارائوتیکولار موش، بعد از قرار گرفتن موش ها در استرس سرمای حاد (شش ساعت) و استرس مزمن (سی ساعت) به طور معنی داری افزایش می یابد (6). پاسخ های تکثیر لنفوسیت ها در برابر میتوزن ها در افراد افسرده و همچنین در زنان مطلقه در مقایسه با کسانی که زندگی زناشویی مشترک داشتند کمتر بوده است. به علاوه تیترا آنتی بادی ضد ویروس هرپس و ویروس اپشتین بار در مردانی که از همسرانشان جدا شده بودند کاهش یافته بود، که حکایت از کاهش توانایی دفاع سلولی این افراد در برابر عفونت های ویروسی می نماید. به علاوه تحقیقات نشان داده که میزان IgA، گیرنده اینترلوکین دو (Interleukine-2-IL2) و اینترفرون گامای بزاق در دانشجویان در زمان امتحانات کاهش می یابد (7). همچنین مشاهده شده است که شدت علائم افسردگی با کاهش فعالیت سلول های کشنده طبیعی (Natural Killer Cells-NK) و کاهش سلول های T سایتوتوکسیک همراه بوده است (8، 9). مطالعات گوناگونی بر روی

افرادی که تحت تأثیر عوامل استرس زا بوده اند صورت گرفته است مثلاً بارتروپ و همکارانش با مطالعه روی 26 زن و مرد که همسرانشان به شدت بیمار بودند، مشاهده کردند که پاسخ تکثیر لنفوسیت ها به میزان زیادی در افراد داغ دیده کاهش یافته است (10). به علاوه در مطالعه ای روی نمونه خون 16 مرد که همسرانشان در اثر سرطان سینه در حال مرگ بودند، نشان داد که قبل از فوت و بلافاصله بعد از فوت و یک دوره 4 تا 14 ماه پس از فوت همسرانشان، پاسخ تکثیر سلول T سرکوب یافته، که بیشتر به واقعه از دست دادن همسر ارتباط داشت (11). استرس سبب کاهش ماکروفاژها در زخم و افزایش آنها در سلول های توموری می گردد و از آنجایی که مواد مترشحه از این ماکروفاژها در رگ سازی بسیار موثرند، در نتیجه میزان ترشح مواد رگ ساز در زخم ها کاهش می یابد (8). بنابراین می توان گفت که استرس احتمالاً سبب کند شدن جریان ترمیم زخم می شود. در سال 2002 مشاهده شد عوامل التهابی که سبب بیماری های قلبی و عفونت های مختلف می گردند، می توانند در اثر حالات هیجانی تشدید شوند (12) و لذا احتمالاً ترمیم زخم نیز در اثر هیجانات و استرس به تعویق افتد. با علم بر این که هر فردی در اطراف خود با مشکلات روز افزون خانوادگی، اقتصادی، شغلی، مرگ اطرافیان، تصادفات و غیره مواجه است و ناگزیر انواع مختلفی از عوامل استرس زا را تجربه می کند، لذا در این مطالعه تأثیر استرس سرما و بی حرکتی بر بهبود زخم در موش Balb/c مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

در این مطالعه مداخله ای 30 موش Balb/c از جنس ماده، با 8 هفته سن به منظور بررسی تأثیر استرس سرما و بی حرکتی بر بهبود زخم انتخاب و به 3 گروه 10 تایی تقسیم گردیدند. آزمایشات پس از صدور مجوز تحقیق شماره 470 کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد به شرح زیر مورد مطالعه قرار گرفتند. در کلیه موش ها، پس از انجام بیهوشی (13) و تراشیدن موی ناحیه پشت و ضد عفونی کردن پوست به کمک تیغ بیستوری برشی به طول 1 سانتیمتر (14) ایجاد گردید. موش های گروه اول هر روز به مدت 2 ساعت تحت استرس سرما (15) از طریق نگهداری در یخچال در دمای 7

اندازه زخم ها در موش های گروه کنترل بیشتر بود (0/05) $p <$ (نمودار 2). کلیه زخم ها در موش های گروه کنترل در روز یازدهم بهبود یافتند ولی در موش های تحت استرس سرما و بی حرکتی تا روز پانزدهم ادامه داشت.



نمودار 2. مقایسه اثر استرس بی حرکتی بر بهبود زخم با گروه کنترل

استرس بی حرکتی به طور معنی داری بهبود زخم را در مقایسه با گروه کنترل کند نمود ($p < 0/05$). همچنین بهبودی زخم ها در موش های تحت استرس بی حرکتی تا روز پانزدهم ادامه داشت.

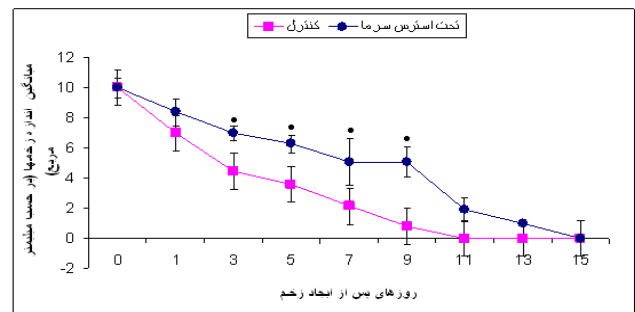
بحث

در این مطالعه تأثیر استرس سرما و بی حرکتی بر جریان بهبود زخم در موش های نژاد Balb/c مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی انجام گرفته در زمینه تأثیر استرس بر جریان بهبود زخم نشان داد که جریان بهبودی زخم در موش های گروه کنترل که هیچ گونه استرسی بر آنها وارد نشده بود، سریع تر از بهبودی زخم در موش های گروه های تحت استرس سرما و بی حرکتی بود. این نتایج نشان می دهند که دوره بهبودی در گروه های تحت تأثیر استرس سرما و بی حرکتی طولانی تر است. تمام زخم ها در موش های گروه کنترل یازده روز پس از ایجاد زخم بهبود یافتند در صورتی که تمام زخم های موش های تحت استرس سرما و بی حرکتی پانزده روز پس از ایجاد زخم بهبود یافتند. مطالعات دیگر نیز نشان داده اند که عوامل متعددی ترمیم پوست را پس از آسیب پوستی به تأخیر می اندازد (17). وقتی حیوان بی حرکت می شود، استرس افزایش می یابد، در واقع گلوکوکورتیکوئیدها که یک میانجی کلیدی مرتبط با استرس

درجه سانتی گراد (ضمن تامین هوای کافی برای حیوان) قرار گرفتند. موش های گروه دوم به همان مدت تحت استرس بی حرکتی (16) از طریق محدود کردن حیوان در لوله های فالتکونی 50 میلی لیتر با ایجاد سوراخ به منظور امکان دسترسی حیوان به هوای آزاد، قرار داده شدند. موش های گروه سوم (گروه کنترل) بدون مداخله رها شدند. کلیه موش ها در شرایط ایتیم از نظر نور و تاریکی نگهداری و آب و غذا به طور یکسان در اختیار آنان قرار داده شد. موش های تمام گروه ها از نظر اندازه زخم هر دو روز یک بار بررسی و توسط کولیس ورنیه اندازه گیری شدند. اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آماری تی با یکدیگر مقایسه شدند.

یافته ها

نتایج بدست آمده از مقایسه تأثیر استرس سرما بر جریان بهبودی زخم نشان داد که میانگین اندازه زخم ها در موش های تحت استرس سرما به طور معنی داری از میانگین اندازه زخم ها در موش های گروه کنترل بیشتر بود ($p < 0/05$) (نمودار 1).



نمودار 1. مقایسه اثر استرس سرما بر بهبود زخم با گروه کنترل

استرس سرما به طور معنی داری بهبود زخم را در مقایسه با گروه کنترل کند کرده است ($p < 0/05$). کلیه زخم ها در موش های گروه کنترل در روز یازدهم بهبود یافتند ولی در موش های تحت استرس سرما تا روز پانزدهم ادامه داشت. نتایج بررسی تأثیر استرس بی حرکتی بر جریان بهبودی زخم نشان داد که میانگین اندازه زخم ها در موش های تحت استرس بی حرکتی به طور معنی داری از میانگین

حذف دخالت هورمون های جنسی فقط از موش های ماده استفاده شد.

نتیجه گیری

اگر چه استرس سرما و استرس بی حرکتی می تواند باعث استرس روانی شود ولی به طور قطع این دو نوع استرس از یک جنس نیستند. از جمع بندی مطالب فوق ممکن است این احتمال داده شود که هر نوع استرسی ممکن است در بهبود زخم تاثیر منفی داشته باشد، لذا توصیه می شود که در کنار توجهات پزشکی، سعی گردد به فضای روانی بیماران دچار زخم های شدید توجه بیشتری مبذول گردد.

تشکر و قدردانی

مولفین از راهنمایی ها و همکاری های آقای دکتر مهرداد شهرانی و سرکار خانم محبوبه یوسفی و سایر کارکنان مراکز تحقیقات گیاهان داروئی و سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و نیز از حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تشکر می نمایم.

منابع

1. Pruet SB. Stress and the immune system. *Pathophysiology*. 2003;9(3):133-53.
2. Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nat Rev Immunol*. 2005;5(3):243-51.
3. Padgett DA, Glaser R. How stress influences the immune response. *Trends Immunol*. 2003; 24(8): 444-8.
4. Engeland CG, Sabzehei B, Marucha PT. Sex hormones and mucosal wound healing. *Brain Behav Immun*. 2009;23(5):629-35.
5. Routley CE, Ashcroft GS. Effect of estrogen and progesterone on macrophage activation during wound healing. *Wound Repair Regen*. 2009; 17(1):42-50.
6. Bartanusz V, Aubry JM, Jezova D, Baffi J, Kiss JZ. Up-regulation of vasopressin mRNA in paraventricular hypophysiotrophic neurons after acute immobilization stress. *Neuroendocrinology*. 1993;58(6):625-9.

روانی هستند افزایش می یابند و باعث تأخیر در ترمیم پوست می شوند و همچنین میزان کورتیکواسترون پلازما نیز افزایش می یابد. به علاوه به اثبات رسیده است که استرس ناشی از بی حرکتی، سنتز DNA اپیدرمال و همچنین لیپوژنز غده های چربی را کاهش می دهد (7). مطالعات قبلی نشان داده اند بیان mRNA وازوپرسین و ساخت آن در زیر بخش هسته های پاراونتیکولار هنگام استرس بی حرکتی بالا می رود (6). بیان mRNA فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروپین در هسته های پاراونتیکولار موش نیز بعد از قرار گرفتن موش ها در استرس سرمای حاد (شش ساعت) و استرس سرمای مزمن (سی ساعت) به طور معنی داری افزایش می یابد (18). همچنین مشخص شده است هنگامی که جانور تحت استرسورهای مختلف است وازوپرسین هسته های پاراونتیکولار توانایی بالا بردن هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین را دارد. این هورمون باعث بالا بردن آزادسازی آدرنو کورتیکوتروپین هورمون می شود. در مطالعه ای که در سال 2001 صورت گرفت نشان داده شد که استرس بی حرکتی قبل از تولد به طور معنی داری باعث بی خوابی رت ها می شود که این اثرات می تواند در اثر افزایش آزادسازی هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین از هیپوتالاموس باشد. در مطالعه مذکور، رت هایی که تحت تأثیر استرس بی حرکتی قبل از تولد قرار گرفتند، فعالیت محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال آن ها افزایش یافته بود (16).

با توجه به این که عوامل التهابی که می توانند در اثر حالات هیجانی و استرس تشدید شوند (14) احتمال می رود استرس وارده به این حیوانات از این طریق ترمیم زخم را به تعویق انداخته باشند. مطالعات قبلی پیشرفت بیشتر عفونت های ویروسی و تومورها را نسبت به جانورانی که تحت استرس نبوده اند، گزارش کرده اند (19) در مطالعه ای که ارتباط بین استرس روانی و بهبود زخم را بررسی کرده (20) نتایجی شبیه مطالعه حاضر بدست آمده است. نظر به این که هورمون های جنسی در بهبود زخم دخالت دارند (4)، به علاوه پروژسترون و استروژن بر پیشرفت التهاب موثر بوده و با افزایش فعالیت ماکروفاژها بر بهبود زخم موثرند (5)، در این تحقیق به منظور

7. Vodjgani M. Immunology. 3rd ed. Tehran: Jahad Daneshgahi Publication Organization; 2001.
8. Crowther M, Brown NJ, Bishop ET, Lewis CE. Microenvironmental influence on macrophage regulation of angiogenesis in wounds and malignant tumors. *J Leukoc Biol.* 2001; 70(4): 478-90.
9. Raullet DH, Guerra N. Oncogenic stress sensed by the immune system: role of natural killer cell receptors. *Nat Rev Immunol.* 2009; 9(8): 568-80.
10. Bartrop RW, Lazarus L, Luckhurst E, Kiloh LG, Penny R. Depressed lymphocyte function after bereavement. *The Lancet.* 1997;309(8016): 834-836
11. Schleifer SJ, Keller SE, Camerino M, Thornton JC, Stein M. Suppression of lymphocyte stimulation following bereavement. *JAMA.* 1983;250(3):374-7.
12. Kiecolt-Glaser JK, McGuire L, Robles TF, Glaser R. Psychoneuroimmunology and psychosomatic medicine: back to the future. *Psychosom Med.* 2002;64(1):15-28.
13. Nakasone A, Shibata S, Suzuki S, Yamashita Y, Ohyama K. Laser burn wound healing in nasolabial region of fetal and neonatal mice. *Oral Diseases.* 2007;13(1):45-50.
14. Fatehi M, Anvari K, Fatehi-Hassanabad Z. The beneficial effects of protein tyrosine kinase inhibition on the circulatory failure induced by endotoxin in the rat. *Shock.* 2002;18(5):450-5.
15. Cichoń M, Chadzińska M, Ksiazek A, Konarzewski M. Delayed effects of cold stress on immune response in laboratory mice. *Proc Biol Sci.* 2002;269(1499):1493-7.
16. Pacák K, Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocr Rev.* 2001; 22(4): 502-48.
17. Denda M, Tsuchiya T, Elias PM, Feingold KR. Stress alters cutaneous permeability barrier homeostasis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000;278(2):R367-72.
18. Zoeller RT, Kabeer N, Albers HE. Cold exposure elevates cellular levels of messenger ribonucleic acid encoding thyrotropin-releasing hormone in paraventricular nucleus despite elevated levels of thyroid hormones. *Endocrinology.* 1990;127(6):2955-62.
19. Miller AH. Neuroendocrine and immune system interactions in stress and depression. *Psychiatr Clin North Am.* 1998; 21(2):443-63.
20. Glaser R, Kiecolt-Glaser JK, Marucha PT, MacCallum RC, Laskowski BF, Malarkey WB. Stress-related changes in proinflammatory cytokine production in wounds. *Arch Gen Psychiatry.* 1999; 56(5): 450-6.