اثر استرس بي‌پيثاتي و اکسي توسين اگزوژن بر تعداد سلول‌های كشنه طبیعی در خون محيطی و طحال در رت های نر

نويسندگان: زهرا امیدی 1، محمدرضا واعظ مهدوی 2، محمد وقانی 3، طوبی غصنفری 4، نوره عسکری 5، مرضیه اقتداردوست 6

چکیده

مقدمه و هدف: استرس‌های اجتماعی با تأثیر بر سیستم ایمنی و یاکسی‌های فیزیولوژیک اندام‌ها، طیف وسیعی از اختلالات و ریز تارسا‌های سایکوبیوتولوژیکا با جمله افسردگی و اضطراب را به دنبال دارد. همچنین اکسی‌توسین در سیستم عصبی مرکزی و برخی بافت‌ها تولید می‌شود. در کاهش اضطراب و افسردگی ناشی از استرس نقش دارد. همچنین استرس‌های اجتماعی بر تنظیم‌های کشنه طبیعی سیسیم ایمنی ناشی از نقد مهمی در دفاع در برابر تومورها و عفونت‌ها و ویروسی دارد. اثر اکسی‌توسین بر تعداد قلبی‌های استرس، به‌صرفه سیسیم ایمنی ذاتی که بیش از حد، باعث افزایش سطح اکسی‌توسین در دسترس است. 

مواد و روش‌های بررسی: در این مطالعه، مدل سه‌گنج Wistar به تعداد 20 روز نسبت به استرس‌های بی‌پی‌پای بوده و طوری که به میزان آنها در سه روز جدید عرض می‌شود از زور 11 ام یک کروه از بقیه 20 میکروبلد و کروه دیگر 20 میکروبلد اکسی‌توسین با غلظت 1mg/ml و کروه کنترل در مزار سالم سیسیم به صورت تریبیک اینتراپلات دریابی کردند و یک کروه کنترل سالم بدون میکسی‌کننده تریبیک وجود داشت. در پایان مطالعه، به تعداد 12 نمونه، کشنه شده و کشت شدند و نمونه‌های خون محيطی و نبات طحال جمع‌آوری شدند و تعداد سلول‌های کشنه طبیعی در رت های مواجه با این استرس، است. 

نتایج: تعداد سلول‌های NK در خون محيطی در کروه‌های استرس بی‌پی‌پای و تیمار شده با دوز های 20 و 40 میکروپیلوتر به اکسی توسین به ترتیب (9.6±0.8/4±0.23/2.5±0.4) نسبت به کروه کنترل سالم (1/2±1.4/3±0.5) تفاوت معنی‌داری نداشت. در طحال نسبت به کروه کنترل سالم NK به کروه‌های استرس بی‌پی‌پای، اکسی توسین به دوز های 20 و 40 میکروپیلوتر به ترتیب (4/6±1/4±1/2±1/6±0/2.5) چشمکش مورد مطالعه با پمپینی و تریبیکیک افزایش می‌یافت (Pvalue=0.025 و Pvalue=0.008).

تلاش برای بهبود تعداد سلول‌های NK در خون محيطی اورژانسی برای کاهش استرس و افزایش تعداد سلول‌های NK در طحال راه‌ها می‌شود که در واقع نشان می‌دهد که این اثر هم‌اکنون اسپرسومیک است. 

یافته‌گر کلیدی: استرس بی‌پی‌پای، سلول کشنه طبیعی، اکسی توسین

واژگان کلیدی: استرس بی‌پی‌پای، سلول کشنه طبیعی، اکسی توسین

E-mail: Mh_mahdavi@yahoo.com
Mقدمه

استرس یکی از عواملی است که در فضای محیطی می‌باشد و عواملی یا تنش‌هایی که به سرطان و سلول‌های درونی یا پرورش‌دار بازیابی می‌کند، در فاز اولیه، عواملی بدون حساسیت و قابل تشخیص نمی‌باشد. در صورت قیاس از طریق پرورش‌های و ترکیب سایتوکن‌های TNP-α, IFN-α و NK α, IFN α، باعث یک عمل استرس‌زا (stressor) می‌شود که می‌تواند با توجه به یک عمل استرس‌زا به عنوان رودادهای فیزیولوژیک و وابسته به ناحیه غیرطبیعی و در نهایت پیدایش اعصاب عمومی و اختصاصی در فرد است. گنگی می‌تواند با توجه به تخصص‌های پزشکی و سایتوکن‌های سلول‌های NK در خاک‌های تکنیکی افزایش داشته است. در مطالعه مدل استرس اجتماعی موجب افزایش تعادل و فعالیت NK می‌شود (3). مطالعه‌های در سال 2015 نشان دادند که می‌تواند با توجه به توجه به جمعیت‌های جامعه ای این سلول‌ها اثر بگذارد.

استرس اجتماعی و روان‌شناختی شامل یکی از یکی و یا مجموعه‌ای موجب تحرک فیزیولوژیک و پاتولوژیک شدن مکانیسم‌های منطقه بیولوژیک برای خلق و حالت غیرطبیعی و در نهایت پیدایش اعصاب عمومی و اختصاصی در فرد است. گنگی می‌تواند با توجه به تخصص‌های پزشکی و سایتوکن‌های سلول‌های NK در خاک‌های تکنیکی افزایش داشته است. در مطالعه مدل استرس اجتماعی موجب افزایش تعادل و فعالیت NK می‌شود (3). مطالعه‌های در سال 2015 نشان دادند که می‌تواند با توجه به توجه به جمعیت‌های جامعه ای این سلول‌ها اثر بگذارد.
گرفتن به طور که هر سه روز یکبار همانی آنها
عوض می شد و از روز 11 میزان 40 میکرولیتر
اکسی توسین با غلظت 1mg/ml به صورت تزریق
ابتیوانال در واحدها کردند.
گروه چهار: گروه کنترل که همانی آنها تا آخر
دوره استرس ثابت بود و ترمال سالیان به صورت تزریق
ابتیوانال در واحدها (کنترل سالیان)
گروه پنجم: گروه کنترل که همانی آنها تا آخر دوره
استرس ثابت بود و 40 میکرولیتر اکسی توسین به
صورت تزریق ابتیوانال در واحدها کردند. (کنترل
اکسی توسین 2)
نکات: "گروه کنترل که همانی آنها تا آخر
دوره استرس ثابت بود و 40 میکرولیتر اکسی توسین به
صورت تزریق ابتیوانال در واحدها (کنترل
اکسی توسین 2)
کمیته اخلاق پژوهشی زیست پزشکی دانشگاه
شاهرود با کمیته اخلاقی 619.037.061
رسیده است.
گروه اول: گروهی که تحت انتشار یک مادر نه سه روز یکبار همانی آنها
عوض می شد و هیچ گونه ماده در واحدها کردند.
گروه دوم: گروهی که تحت انتشار یک مادر نه سه روز یکبار همانی آنها
عوض می شد و از روز 11 میزان 20 میکرولیتر
اکسی توسین با غلظت 1mg/ml به صورت تزریق
ابتیوانال در واحدها کردند.
گروه سوم: گروهی که تحت استرس یک مادر نه

آمارهای آزمایش‌گزاران مورد استفاده از SPSS نشان می‌دهد که اختلاف بین دو گروه در نظر گرفته شد.

نتایج مربوط به شمارش سلول‌های NK با فلوسیتومتری APIC Mouse Anti-Rat FTIC Mouse APC Mouse IgM، κ Isotype Control، CD3 از شرکت BD تهیه شد. در شکل 1 b نشان داده شده است.

شکل 1. نتایج gating با DRAFRR/1A FaR/CD161a نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار FlowJo.

کروکوز شده با فلوروکروم‌های AntiCD3،AntiCD161 اضافه شده و بعد از لیزرکن گلول‌های EDI/FTIC/CD161a،APC Mouse Anti-Rat،FITC Mouse APC Mouse IgM، κ Isotype Control در خون سلول‌های NK در هر میلی‌لیتر توسط دستگاه فلوسیتومتر مدل ATON NXT شمارش شد و نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار FlowJo بررسی شد.

آمارهای آماری نشان می‌دهد که اختلاف بین دو گروه در نظر گرفته شد.

نتایج رابطه بین متغیرهای SPSS از معادل 106 سلول به دست آمده. آنتی‌باده‌ها کروکوز شده با فلوروکروم‌های AntiCD3،AntiCD161 اضافه شده و بعد از لیزرکن گلول‌های EDI/FTIC/CD161a،APC Mouse Anti-Rat،FITC Mouse APC Mouse IgM، κ Isotype Control در خون سلول‌های NK در هر میلی‌لیتر توسط دستگاه فلوسیتومتر مدل ATON NXT شمارش شد و نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار FlowJo بررسی شد.

شکل 1. نتایج gating با DRAFRR/1A FaR/CD161a نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار FlowJo.

کروکوز شده با فلوروکروم‌های AntiCD3،AntiCD161 اضافه شده و بعد از لیزرکن گلول‌های EDI/FTIC/CD161a،APC Mouse Anti-Rat،FITC Mouse APC Mouse IgM، κ Isotype Control در خون سلول‌های NK در هر میلی‌لیتر توسط دستگاه فلوسیتومتر مدل ATON NXT شمارش شد و نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار FlowJo بررسی شد.

شکل 1. نتایج gating با DRAFRR/1A FaR/CD161a نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار FlowJo.

کروکوز شده با فلوروکروم‌های AntiCD3،AntiCD161 اضافه شده و بعد از لیزرکن گلول‌های EDI/FTIC/CD161a،APC Mouse Anti-Rat،FITC Mouse APC Mouse IgM، κ Isotype Control در خون سلول‌های NK در هر میلی‌لیتر توسط دستگاه فلوسیتومتر مدل ATON NXT شمارش شد و نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار FlowJo بررسی شد.

شکل 1. نتایج gating با DRAFRR/1A FaR/CD161a نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار FlowJo.
جدول 1- میانگین درصد و احراز معیار سلولهای NK در خون و طحال در گروه‌های مختلف مطالعه.

<table>
<thead>
<tr>
<th>گروه‌ها</th>
<th>میانگین درصد NK</th>
<th>احراز معیار (SD)</th>
<th>میانگین NK در طحال</th>
<th>احراز معیار (SD)</th>
<th>P-value1</th>
<th>P-value2</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>کنترل (بدن استرس و تیمار)</td>
<td>45.4</td>
<td>2.1</td>
<td>0.6</td>
<td>1.5</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>کنترل (دریافت سالیه)</td>
<td>74.5</td>
<td>5.0</td>
<td>1.9</td>
<td>1.5</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>کنترل (بدن استرس- دوز 40 میکرولتر اکسی)</td>
<td>65.5</td>
<td>1.9</td>
<td>0.4</td>
<td>0.4</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>کنترل (بدن استرس- دوز 20 میکرولتر اکسی)</td>
<td>35.5</td>
<td>1.7</td>
<td>0.6</td>
<td>0.5</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>استرس یونتایی</td>
<td>51.7</td>
<td>3.9</td>
<td>0.9</td>
<td>0.9</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>استرس یونتایی- دوز 20 میکرولتر اکسی)</td>
<td>51.7</td>
<td>3.9</td>
<td>0.9</td>
<td>0.9</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>استرس یونتایی- دوز 40 میکرولتر اکسی)</td>
<td>41.4</td>
<td>0.9</td>
<td>0.6</td>
<td>0.6</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

نتایج حاصل از بررسی فلوسیتومتری نشان می‌دهد که درصد سلولهای NK در خون در گروه‌های مختلف مطالعه تفاوت معنادار ندارد ولی درصد سلولهای NK در طحال در گروه‌های استرسی نسبت به کنترل سالم افزایش دارد که معنادار نیست. ولی در گروه‌های استرسی که دو دوز 20 و 40 میکرولتر اکسی تحت تأثیر است، درصد NK در طحال کاهش نسبت به کنترل سالم و کنترل سالم افزایش معنادار دارد. از نظر تخصصی با اکسی تیمار نسبت به کنترل سالم، درصد NK در طحال کاهش نسبت به کنترل سالم افزایش معنادار دارد. از دیدگاه تخصصی، درصد NK در طحال در گروه‌های استرسی نسبت به کنترل سالم کاهش نسبت به کنترل سالم افزایش دیده می‌شود.

P-value1* اختلاف معنادار بین گروه‌های استرسی

P-value2* اختلاف معنادار بین گروه‌های تیمار شده با اکسی تیمار نسبت به کنترل سالم را نشان می‌دهد.
بحث

سلولهای NK جزئی از لنفوسیت‌های ایمنی ذاتی هستند که نقش مهمی در دفاع اولیه میزان علیه سلولهای عفونی و توموری دارند. این سلول‌ها در گردش خون در حال استراحت هستند و وقتی توسط سایتکانی این فعال می‌شوند به بافت عفونی و توموری همراهی کرده و بدون ترکیب اولیه توسط ظرفورین-گرآزین موجب کشیدنگی سلول هدف می‌شوند.
(16)

استرس مزمن از جمله فاکتورهای ایست که می‌تواند سیستم ایمنی را دست‌تحلیل تغییرات کند. استرس مزمن می‌تواند اثرات سویی بر سیستم‌های فیزیولوژیکی از طریق تاسیس ظرفیت‌های مثبت با کاتال، این و گلوکوکورتئونیدها داشته باشد. استرس مزمن می‌تواند برخی پارامترهای سیستم ایمنی سلولی از جمله تغییر لنفوسیت‌های T کاهش دهد. همچنین استرس مزمن اجتماعی ناشی از یه‌بی‌یا و محرومیت می‌تواند سایتکانی‌های تی‌یی‌تی‌ا مثلاً TNF-α و IL-1 افزایش می‌دهد.
(17)

مقاله ما نشان داد که در استرس مزمن اجتماعی (یه‌بی‌یا اجتماعی) تعداد سلولهای NK در خون محیطی در گروه‌های استرس و تیمار شده با اکسیکا پوسین نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. ولی در حالی که در گروه‌های استرس تیمار شده با دو دوز NK ۲۰ و ۴۰ مکرولیتر اکسیکا تعداد سلولهای NK نسبت به گروه‌های کنترل و کنترل سالین افزایش معنی‌دار داشت. همچنین اکسیکا پوسین به‌نهاپیزی نیز در این گروه‌ها در خون و اطلال بر تعداد سلولهای NK اثر معنی‌دار نداشت ولی وقتی با استرس زمانی شد موجب افزایش معنی‌دار در تعداد NK در حالت شد. نتایج جالبی در این مطالعه این است که اکسیکا میزان گلوکورتئونیدها را کاهش داده است. اما تغییراتی که در گروه‌های استرس موجب کاهش شد یا NK نتوانسته استرس را با سلول NK تغییر دهد و این نشان می‌دهد احتمال استرس علائم و سنسرهای و HPA

از اثربندی و اکسی توسین اثرهای بر تعداد سلولهای کشیده‌نی در...


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 VaezMahdavi²*, 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