

بررسی اثرات استرس مزمن چندگانه ترتیبی، بر ساختار میکروسکوپی قشر مخچه موش صحرایی نر

فرزاد رجایی^۱، مریم اخوان توکلی^۲، حسن اژدری زرمهری^۳

چکیده

زمینه و هدف: افزایش استرس به دنبال پیشرفت تکنولوژی، می‌تواند باعث اختلال در فعالیت بافت‌ها و اعضای بدن شود. با توجه به نقش مخچه در هماهنگی حرکات بدن، مطالعه حاضر به منظور بررسی آثار استرس بر روی قشر مخچه موش صحرایی انجام شد. روش تحقیق: ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، به صورت تصادفی به ۲ گروه مساوی تقسیم شدند. حیوانات در گروه تحت استرس، به مدت ۱۰ روز، در معرض استرس‌های مختلف به صورت محرومیت غذایی، محرومیت آب، بی‌حرکتی در دمای ۴ درجه، شنای اجباری و ایزولیشن قرار گرفتند؛ در حالی که حیوانات گروه کنترل، بدون هیچ مداخله‌ای در قفس‌های خود نگهداری شدند. پس از مدت مورد نظر، حیوانات بیهوش شده و مخچه آنها جدا و وزن شد. پس از آماده‌کردن برش‌های میکروسکوپی از لب راست مخچه و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین، تعداد و اندازه سلول‌های پورکینژ و ضخامت لایه مولکولار قشر مخچه، با برنامه نرم‌افزاری Image Tool، در گروه‌های مورد مطالعه تعیین شد و داده‌ها از نظر آماری در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ مقایسه گردید. یافته‌ها: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میانگین تعداد و اندازه سلول‌های پورکینژ، در گروه تحت استرس (به ترتیب $11/87 \pm 6/17$ و $89/75 \pm 14/7$) نسبت به گروه کنترل (به ترتیب $11/65 \pm 8/43$ و $17/25 \pm 96/68$) کاهش معنی‌داری داشت (به ترتیب $P < 0.001$ و $P < 0.004$)، ولی میانگین ضخامت لایه مولکولار در گروه تحت استرس، تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشت. نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استرس مزمن چندگانه ترتیبی، با کاهش اندازه و تعداد سلول‌های پورکینژ، احتمالاً اثرات منفی بر قشر مخچه موش دارد.

واژه‌های کلیدی: استرس متنوع چندگانه، سلول‌های پورکینژ، موش صحرایی، مخچه

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۱؛ ۱۹ (۴): ۳۵۵-۳۶۱

دریافت: ۱۳۹۱/۰۵/۲۶ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۲/۱۶

^۱ نویسنده مسؤؤل، دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.
آدرس: قزوین- بلوار شهید باهنر- دانشگاه علوم پزشکی - گروه علوم تشریحی
تلفن: ۰۹۱۲۲۸۱۷۴۲۱ پست الکترونیکی: farzadraj@yahoo.co.uk
^۲ کارشناس ارشد، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.
^۳ استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

مقدمه

استرس، به عنوان آشفتگی روحی یا عاطفی و یا دگرگونی تعریف می‌شود که در پاسخ به اثرات عوامل زیان‌آور خارجی و همچنین محرک یا موقعیت ایجادکننده آن رخ می‌دهد (۱). ازدحام موش‌ها می‌تواند به عنوان استرس، بر روی میزان هوشیاری، اعمال مغزی و فعالیت‌های نورواندوکرین آنها مؤثر باشد (۲). اولین بار Hans Selye برای تفکیک وضعیت استرس از محرک‌هایی که موجب آن می‌شود، واژه استرسور را معرفی کرد. محرک‌ها به صورت‌های متنوع و همین‌طور در مدت طولانی، می‌توانند منجر به ایجاد استرس شوند (۱). سرچشمه عوامل استرس‌زا در دنیای پیشرفته و مدرن امروزی، می‌تواند از تعاملات بین‌فردی و اجتماعی تا عوامل استرس‌زای جسمی باشد. عوامل استرس‌زای اجتماعی، با روش‌های مختلفی شامل: شکست حاد و مزمن اجتماعی، ناپایداری اجتماعی، ازدحام و جداسازی، در آزمایشگاه شبیه‌سازی شده است (۳). نشان داده شده است که استرس مزمن، با تغییر نوروترانسمیترها و ساختارهای نورونی در راه‌های عصبی، سبب به‌وجودآمدن بیماری‌ها و اختلالات بسیاری می‌شود. از آنجایی که مخچه مسؤول هماهنگی حرکات و درگیر در عملکردهای شناختی می‌باشد، اختلال در تشکیل نورون‌ها و ساختارهای نورونی آن، سبب ایجاد اختلالات بسیاری در عملکرد طبیعی فرد می‌شود (۴). میزان تغییرات فیزیولوژیک تحت تأثیر عوامل استرس‌زا، بستگی به شدت، تناوب و طول مدت قرارگیری حیوان در آن موقعیت خواهد داشت (۵). انواع متفاوت از استرس‌های فیزیولوژیکی و روانشناختی، بر محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - قشر فوق‌کلیوی، محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گنادی، سیستم سمپاتیک آدرنومدولاری و سیستم عصبی سمپاتیک اثر کرده و منجر به تغییراتی در تعدادی از اعضا و بافت‌ها می‌شوند (۶). رادیکال‌های آزاد تولیدشده به دنبال استرس، با آسیب به فسفولیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، باعث اختلال

عصبی و ضایعه سلولی می‌شوند (۷). استرس اکسیداتیو شدید در نواحی مغزی مانند: قشر، هایپوکامپ، عقده‌های قاعده‌ای و مخچه، اثرات منفی دارد (۸). استرس مزمن، با القای آسیب‌های اکسیداتیو و ایجاد تغییر در فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها، ممکن است باعث افزایش تخریب سلول‌ها شود که این امر می‌تواند به ایجاد حالت فقدان لذت در موش‌های استرسی منجر شود (۹). استرس حاد، با افزایش هیستامین مغز به ویژه در دیانسفال، می‌تواند با آسیب‌شناسی اضطراب ارتباط داشته باشد (۱۰). تابش پرتوها به بافت‌ها می‌تواند با تولید استرس‌های اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی، باعث آسیب‌های عصبی شوند (۱۱). با توجه به اینکه مطالعات کمی وجود دارد که اثرات استرس مزمن متنوع را بر بافت مخچه موش صحرایی نر و حتی انسان نشان دهند، در تحقیق حاضر، تأثیر استرس مزمن متنوع بر روی ساختار میکروسکوپی قشر مخچه بررسی شد.

روش تحقیق

در این مطالعه، تعداد ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، با وزن تقریبی ۲۰۰-۳۰۰ گرم با سن ۸ تا ۱۰ ماه، از مؤسسه رازی کرج خریداری شده و به صورت تصادفی به ۲ گروه تحت استرس و بدون استرس تقسیم شدند. حیوانات، تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت مناسب نگهداری شدند. گروه بدون استرس، بدون هیچ اختلالی در قفس‌های خود در طول ۱۰ روز درمان قرار گرفتند؛ در حالی که در گروه تحت استرس، حیوانات به مدت ۱۰ روز در معرض انواع مختلف استرس قرار گرفتند. عوامل استرس‌زا و مدت زمان اعمال هر یک، بر اساس مدل Grissom N و همکاران در جدول یک ذکر شده است (۱۲). استفاده از استرس، در زمان‌های مختلفی از روز، به منظور به حداقل رساندن قابلیت پیش‌بینی‌شدن آن، شروع شد. بی‌حرکتی، با قرارگیری در محفظه پلاستیکی لوله‌ای شکلی به ابعاد ۲۱×۶ سانتی‌متر به

انجام رسید، به صورتی که حیوانات قادر به حرکت نبودند.

جدول ۱- عوامل استرس زای چندگانه ترتیبی به کاررفته در مطالعه

| روزها | موارد استفاده شده | دوره |
|-------|---------------------------|----------|
| ۱ | شنای اجباری | ۱۰ دقیقه |
| ۲ | محدودیت | ۳ ساعت |
| ۳ | محرومیت آب در دمای ۳ درجه | ۲۴ ساعت |
| ۴ | محدودیت در دمای ۴ درجه | ۱/۵ ساعت |
| ۵ | ایزولیشن | ۲۴ ساعت |
| ۶ | محرومیت غذا | ۲۴ ساعت |
| ۷ | محرومیت آب | ۲۴ ساعت |
| ۸ | محدودیت در دمای ۴ درجه | ۲ ساعت |
| ۹ | محدودیت غذا | ۲۴ ساعت |
| ۱۰ | شنای اجباری | ۱۰ دقیقه |

نازک به ضخامت ۵ میکرون توسط دستگاه میکروتوم دوآر تهیه شد و در نهایت از هر نمونه، ۵ برش (برش‌های شماره ۵، ۸، ۱۱، ۱۴ و ۱۷)، به منظور پرهیز از شمارش مجدد یک سلول، انتخاب شد. پس از رنگ‌آمیزی برش‌ها با همتوکسیلین و اتوزین، از میدان‌های میکروسکوپی لام‌ها، با دوربین نیکون عکس‌برداری شد. عکس‌ها به کامپیوتر منتقل شده و با برنامه نرم‌افزاری کامپیوتری Image Tool، تعداد و ارتفاع سلول‌های پورکینز و همچنین ضخامت لایه مولکولار مخچه در گروه‌های مورد مطالعه، تعیین شد. برای تعیین میانگین اندازه سلول‌های پورکینز (d) با اندازه‌گیری ارتفاع (a) و قاعده (b) سلول‌ها و از رابطه $d = \sqrt{a \cdot b}$ که قبلاً توسط TIPOE و همکاران گزارش گردیده است، استفاده شد (۱۳). اطلاعات T با استفاده از آزمون t در برنامه SPSS (ویرایش ۱۶) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

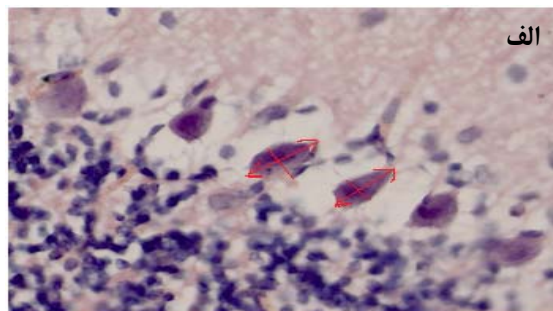
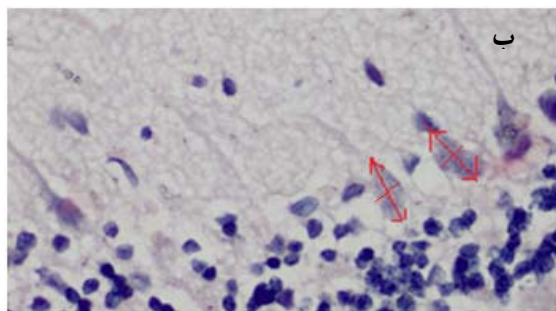
همان‌طور که در جدول ۲ نیز مشاهده می‌شود، میانگین تعداد سلول‌های پورکینز در گروه تحت استرس در مقایسه با گروه کنترل دارای کاهش معنی‌دار بود ($P < 0.001$)؛ همچنین میانگین ارتفاع سلول‌های پورکینز در گروه‌های تحت استرس در مقایسه با گروه کنترل، دارای کاهش معنی‌دار بود ($P < 0.004$)؛ در حالی که میانگین ضخامت لایه مولکولار مخچه در هیچ یک از گروه‌های مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲).

شنای اجباری، با قراردادن حیوان در مخزن شیشه‌ای با اندازه‌های $30 \times 33 \times 44$ سانتی‌متر و با عمق ۲۲ سانتی‌متر آب در دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد صورت گرفت؛ همچنین غذای مناسب و آب کافی در اختیار حیوانات در هر دو گروه قرار گرفت. پس از پایان ۱۰ روز، موش‌های هر دو گروه، با تزریق کتامین (60 mg/kg) و زایلازین (6 mg/kg) بیهوش شدند. مخچه حیوانات جدا شده و نمونه‌هایی از لب راست مخچه، در داخل محلول فیکساتیو (فرمالین ۱۰٪) به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد؛ سپس مراحل پاساژ بافتی شامل: فیکساسیون، آبیگری، شفاف‌سازی و آغشتگی، توسط دستگاه پردازش بافتی انجام شد.

پس از قالب‌گیری و تهیه بلوک‌های بافتی، برش‌های

جدول ۲- مقایسه قطر و تعداد سلول‌های پورکینز و ضخامت لایه مولکولار در گروه‌های مورد مطالعه

| متغیر | گروه کنترل (Mean±SD) | گروه تحت استرس (Mean±SD) | سطح معنی‌داری |
|------------------------------|----------------------|--------------------------|---------------|
| قطر سلول پورکینز (میکرون) | ۹۶/۶۸±۱۷/۲۵ | ۸۹/۷۵±۱۴/۷ | $P < 0.004$ |
| تعداد سلول‌های پورکینز | ۸/۴۳±۱/۶۵ | ۶/۱۷±۱/۸۷ | $P < 0.001$ |
| ضخامت لایه مولکولار (میکرون) | ۸۰۲±۲۰۲ | ۷۵۵±۱۶۸ | $P < 0.001$ |



شکل ۱- تعداد و ارتفاع سلول پورکینژ گروه‌های کنترل (الف) و استرس (ب). تغییر در تعداد و اندازه سلول‌های پورکینژ در گروه تحت استرس نسبت به کنترل گروه مشاهده می‌شود. بزرگنمایی $\times 40$

بحث

از جنگ خلیج فارس)، سبب از هم گسیختگی سد خونی- مغزی و آسیب سلولی در مخچه می‌شود. آسیب نورونی حتی در مناطقی از مغز که از هم‌گسیختگی سد خونی- مغزی وجود نداشت مشاهده شد. کاهش در فعالیت استیل‌کولین‌استراز مغزی و کاهش در اتصال لیگاند به رسپتور استیل‌کولین نیز در مخچه مشاهده شد؛ همچنین تغییراتی در مخچه به صورت از دست‌دادن سلول‌های پورکینژ و افزایش در واکنش ایمنی ماده سفید مشاهده شد. با توجه به نقش مهم مخچه در راه‌رفتن و هماهنگی حرکات، چنین تغییراتی سبب ایجاد مشکلات رفتاری نظیر اختلالات حرکتی شد (۱۶). مطالعه دیگری به طور مشابه نشان داد که نسبت سلول‌های دانه‌دار به سلول‌های پورکینژ مخچه، در حیواناتی که در دوران جنینی تحت تأثیر استرس بی‌حرکتی بودند، به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش می‌یابد و در نهایت نتایج آنها نشان داد که استرس درون رحمی، مورفولوژی و تعداد نورون‌های مخچه را تغییر می‌دهد. نشان داده شد که استرس اجتماعی، بیان ژن‌های مسؤؤل تشکیل نورون را کم می‌کند و در نتیجه باعث کاهش تکثیر نورونی در مغز می‌شود (۱۷). در تحقیقی دیگر نشان داده شد که استرس اکسیداتیو در زمان قبل از تولد، بر روی ساختار مخچه مؤثر بوده و سبب کاهش تعداد سلول‌های پورکینژ و عدم هماهنگی حرکات در نوزادان رت می‌شود؛ همچنین نشان داده شد که تأثیرات استرس اکسیداتیو در تکامل مغز، وابسته به جنس می‌باشد (۱۸). نشان داده شده است که فعالیت

یافته‌های بررسی حاضر نشان داد که استرس، منجر به کاهش ارتفاع سلول‌های پورکینژ قشر مخچه می‌شود. مطالعه مشابهی که تغییرات مورفومتریک قشر مخچه را به دنبال قرارگیری در معرض اینگونه استرس نشان دهد، بسیار محدود است؛ به‌طوری‌که در مطالعه‌ای نشان داده شد که استرس بی‌حرکتی حاد، سبب ایجاد تغییرات تخریبی فراساختاری در سلول‌های قشری کرمینه مخچه موش‌های صحرایی و در نتیجه، سبب کاهش در اندازه سلول‌ها در کورتکس کرمینه مخچه می‌شود؛ همچنین این مطالعه نشان داد که استرس بی‌حرکتی مزمن، سبب کاهش معنی‌دار در اندازه سلول‌های قشری کرمینه مخچه می‌شود (۱۴). کاهش اندازه سلول‌ها، می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت‌های متابولیکی سلول به دنبال استرس باشد. همان‌طور که گفته شد، استرس، سبب آسیب به سلول و کاهش بیان calbindin D-28k (CAD-28k) در سلول‌های پورکینژ مخچه می‌شود؛ به‌طوری‌که در مطالعه‌ای نشان داده شد، نگهداری حیوانات به طوری که از نظر اجتماعی ایزوله باشند، سبب کاهش بیان CAD-28k در سلول‌های پورکینژ مخچه رت می‌شود (۱۵). از دیگر یافته‌های بررسی حاضر این بود که تعداد سلول‌های پورکینژ، در گروه‌های تحت استرس کاهش یافته بود. در مطالعه دیگری به‌طور مشابه نشان داده شده است که استرس همراه با ترکیبی از دوز کم مواد شیمیایی نظیر پیریدوستیگمین‌بروماید و پرمترین (یک مدل شبیه‌سازی شده

هیستامین در دیانسفال، نقش مهمی در پیشگیری از آسیب‌پذیری در مقابل استرس، بازی می‌کند (۲۲). با توجه به کاهش قطر و تعداد سلول‌های پورکینز و عدم تغییر ضخامت لایه مولکولار تحت تأثیر استرس، به نظر می‌رسد که سلول‌های پورکینز نسبت به نورون‌های لایه مولکولار، حساسیت بیشتری تحت تأثیر استرس نشان می‌دهند و لذا پیشنهاد می‌شود که در مطالعات بعدی، ابعاد سایر سلول‌ها در لایه‌های مخچه تحت تأثیر استرس، مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که استرس مزمن چندانگانه ترتیبی، با کاهش ارتفاع و همچنین کاهش تعداد سلول‌های پورکینز، می‌تواند اثرات منفی بر قشر مخچه موش داشته باشد.

آنزیم‌های $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ ، $\text{Mg}^{++}-\text{ATPase}$ و استیل‌کولین‌استراز در جریان استرس بی‌حرکتی و استرس سرما افزایش می‌یابد (۱۹). رادیکال‌های آزاد، به عنوان عوامل اصلی استرس اکسیداتیو، با جذب الکترون باعث آسیب بیومولکول‌ها مانند: پروتئین‌ها، چربی‌ها و DNA می‌شوند. رادیکال‌های آزاد نیز به طور طبیعی توسط آنتی‌اکسیدان‌ها از بین می‌روند. آنتی‌اکسیدان‌های سلولی مانند: سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون نیز در از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش مهمی دارند (۲۰). مطالعات دیگری نیز وجود دارد که بیانگر این نکته می‌باشد که استرس، باعث تولید اکسیدان‌ها و همچنین عدم تعادل بین سوپراکسید دسموتاز و فعالیت کاتالازهایی که در بیماری‌های وابسته به استرس نظیر افسردگی دخیل می‌باشند، می‌شود (۲۱). مطالعه دیگری نشان می‌دهد که استرس مزمن مداوم، با افزایش جابه‌جایی

منابع:

- 1- Selye H. Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. *Can Med Assoc J.* 1976; 115 (1): 53-6.
- 2- Yıldız A, Hayirli A, Okumus Z, Kaynar Ö, Kısa F. Physiological profile of juvenile rats: effects of cage size and cage density. *Lab animal.* 2007; 36 (4): 47.
- 3- 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; 583 (2-3): 174-85.
- 4- Woolverton WL, Ator NA, Beardsley PM, Carroll ME. Effects of environmental conditions on the psychological well-being of primates: a review of the literature. *Life Sci.* 1989; 44 (14): 901-17.
- 5- Chigurupati S, Son TG, Hyun DH, Lathia JD, Mughal MR, Savell J, et al. Lifelong running reduces oxidative stress and degenerative changes in the testes of mice. *J Endocrinol.* 2008; 199 (2): 333-41.
- 6- Ishida H, Mitsui K, Nukaya H, Matsumoto K, Tsuji K. Study of active substances involved in skin dysfunction induced by crowding stress. I. Effect of crowding and isolation on some physiological variables, skin function and skin blood perfusion in hairless mice. *Biol Pharm Bull.* 2003; 26 (2): 170-81.
- 7- Pilipović K, Zupan Z, Dangubić B, Mršić-Pelčić J, Zupan G. Oxidative stress parameters in different brain structures following lateral fluid percussion injury in the rat. *Neurochem Res.* 2011; 36 (5): 913-21.
- 8- Sharma NK, Sethy NK, Meena RN, Ilavazhagan G, Das M, Bhargava K. Activity-dependent neuroprotective protein (ADNP)-derived peptide (NAP) ameliorates hypobaric hypoxia induced oxidative stress in rat brain. *Peptides.* 2011; 32 (6): 1217-24.
- 9- Wang C, Wu HM, Jing XR, Meng Q, Liu B, Zhang H, et al. Oxidative Parameters in the Rat Brain of Chronic Mild Stress Model for Depression: Relation to Anhedonia-Like Responses. *J Membr Biol.* 2012; 245 (11): 675-81.
- 10- Ito C, Shen H, Toyota H, Kubota Y, Sakurai E, Watanabe T, et al. Effects of the acute and chronic restraint stresses on the central histaminergic neuron system of Fischer rat. *Neurosci Lett.* 1999; 262 (2): 143-5.

- 11- Cui L, Pierce D, Light KE, Melchert RB, Fu Q, Kumar KS, et al. M. Sublethal total body irradiation leads to early cerebellar damage and oxidative stress. *Curr Neurovasc Res.* 2010; 7 (2): 125-35.
- 12- Grissom N, Kerr W, Bhatnagar S. Struggling behavior during restraint is regulated by stress experience. *Behav Brain Res.* 2008, 191 (2): 219-26.
- 13- Tipoe GL, White FH, Pritchett CJ. A morphometric study of histological variations during cellular differentiation of normal human colorectal epithelium. *J Anal.* 1992; 181 (Pt 2): 189-97.
- 14- Mirescu C, Gould E. Stress and adult neurogenesis. *Hippocampus.* 2006; 16 (3): 233-38.
- 15- Hadigol T, Rajaei F. The effects of crowding stress on cortex of mouse cerebellum. *Qom University of medical sciences journal.* 2010; 5 (2): 76-81. [Persian]
- 16- Abdel-Rahman A, Abou-Donia S, El-Masry E, Shetty A, Abou-Donia M. Stress and combined exposure to low doses of pyridostigmine bromide, DEET, and permethrin produce neurochemical and neuropathological alterations in cerebral cortex, hippocampus, and cerebellum. *J Toxicol Environ Health A.* 2004; 67 (2): 163-92.
- 17- Lambert KG, Buckelew SK, Staffiso-Sandoz G, Gaffga S, Carpenter W, Fisher J, et al. Activity-stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal pyramidal neurons in male rats. *Physiol Behav.* 1998; 65 (1): 43-9.
- 18- Magariños AM, McEwen BS, Flügge G, Fuchs E. Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *J Neurosci.* 1996; 16 (10): 3534-40.
- 19- Goldwater DS, Pavlides C, Hunter RG, Bloss EB, Hof PR, McEwen BS, et al. Structural and functional alterations to rat medial prefrontal cortex following chronic restraint stress and recovery. *Neuroscience.* 2009; 164 (2): 798-808.
- 20- Proctor PH, Reynolds ES. Free radicals and disease in man. *Physiol Chem Phys Med NMR.* 1984; 16 (3): 175-95.
- 21- Lucca G, Comim CM, Valvassori SS, Réus GZ, Vuolo F, Petronilho F, et al. Effects of chronic mild stress on the oxidative parameters in the rat brain. *Neurochem Int.* 2009; 54 (5-6): 358-62.
- 22- Ito C. The role of brain histamine in acute and chronic stresses. 2000; 54 (5): 263-7. *Biomed Pharmacother.* 2000; 54 (5): 263-7.

Studying of chronic multiple sequential stress effects on microscopic structure of cerebellar cortex in male rat

Farzad Rajaei¹, Maryam Akhavan Tavakkoli², Hassan Azhdari-Zarmehri³

Background and Aim: Stress increasing which is a consequence of technological development can complicate the function of body organs and tissues. Regarding the role of the cerebellum in harmonizing physical movements, the present study was conducted to assess the effects of chronic stress on cerebella cortex of rats.

Materials and Methods: Eighteen Wistar rats were randomly divided into two equal groups. One was the control group, and the other was the stress group (the experimental group). The stress group were exposed to different types of stress such as food deprivation, water deprivation, imposed restraint in 4 degrees C temperature, forced swimming, and isolation for 10 days while the animals in the control group were kept in their cages without any interventions. After the exposure time, the animals were anesthetized and their cerebellums were removed and weighed. After preparing microscopic slides of the right lobe and staining them with Hematoxiline and Eosin, the number and the size of Purkinje cells, and the thickness of the molecular layer of cerebella cortex were determined using Image Tool software. Finally, the obtained data was statistically compared and $P < 0/05$ was taken as the significant level.

Results: The present study showed that mean number and mean size of Purkinje cells in the stress group significantly decreased (6.17 ± 1.87 and 89.75 ± 14.7 , respectively) compared to those (8.43 ± 1.65 and 96.68 ± 17.25 , respectively) of the control group ($P < 0.001$, $P < 0.004$), but the thickness of molecular layer of cerebellum in the stress group indicated no significant difference compared to the control group.

Conclusion: The present study showed that chronic multiple sequential stresses can have negative effects by reducing the size and number of Purkinje cells in rat cerebella cortex.

Key Words: Chronic multiple sequential stress, Purkinje cells, Rat, Cerebellum

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2013; 19 (4): 355- 361

Received: August 16, 2012

Accepted: March 6, 2013

¹ Corresponding Author; Associated professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran farzadraj@yahoo.co.uk

² MSc, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

³ Assistant professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.