

## RESEARCH ARTICLE

## PENGARUH DURASI STRES AKUT TERHADAP AKTIVASI SEL MAST OTAK TIKUS

**EFFECTS OF ACUTE STRESS DURATION ON THE RAT BRAIN MAST CELL ACTIVATION**

Obed Trinurcahyo Kinantyo Paundralingga\*, Darmawan Darkim\*\*, Badrul Munir\*\*\*, Bonaventura Handoko Daeng\*\*\*\*

\*Laboratorium Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

\*\*Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

\*\*\*Laboratorium Neurologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

\*\*\*\*Fakultas Kedokteran Universitas Widya Mandala, Surabaya, Indonesia

pISSN : 2407-6724 • eISSN : 2442-5001 • <http://dx.doi.org/10.21776/ub.mnj.2017.003.02.4> • MNJ.2017;3(2):73-77

• Received 12 November 2016 • Reviewed 12 June 2017 • Accepted 3 July 2017

**ABSTRAK**

**Latar belakang.** Stres kronis diketahui meningkatkan jumlah dan aktivasi sel mast pada regio otak tertentu melalui peningkatan CRH. Pada stres akut, peningkatan kadar CRH plasma berpotensi meningkatkan aktivitas sel mast otak, walaupun jumlah sel mast pada stres akut tidak meningkat.

**Tujuan.** Mengetahui pengaruh durasi stres akut terhadap aktivasi sel mast otak tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar di regiotalamus dan hipokampus.

**Metode.** Penelitian ini menggunakan desain randomized post test only control group dengan 4 kelompok kontrol paparan stresor 30, 60, dan 90 menit. Aktivasi sel mast pada regiotalamus dan hipokampus dinilai dengan histomorfometrik.

**Hasil.** Terdapat perbedaan signifikan aktivasi sel mast regiohipokampus pada kelompok perlakuan dibanding control ( $p=0,014$ ;  $p<0,05$ ). Namun, peningkatan durasi stresor (30, 60, dan 90 menit) tidak memiliki perbedaan signifikan terhadap aktivasi sel mast. Pada regio talamus tidak didapatkan perbedaan signifikan aktivasi sel mast pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol.

**Simpulan.** Paparan stres akut mengaktivasi sel mast pada regio otak hipokampus walaupun jumlah sel mast-nya tidak bertambah. Durasi stres akut sendiri tidak berpengaruh terhadap aktivasi sel mast.

**Kata kunci:** Durasi stress, sel mast, talamus, hipokampus

**ABSTRACT**

**Background.** Stress of varying duration and types are known to affect the number and activation level of cerebral mast cells (MCs) via plasma CRH. Although MC number is known not to be increased in acute stress, elevated plasma CRH might still activate brain MCs.

**Objective.** To investigate the effect of acute stress of incremental duration to the activation level of thalamic and hippocampal mast cells using elevated platform test to elicit stress in male Wistar rats.

**Methods.** This research used randomized post-test only control group design with 4 control group of 30, 60, and 90 minute stress exposure. Mast cell activation of the regiotalamus and hippocampus is assessed by histomorphometrics.

**Results.** In the hippocampus, we found a significant difference of MC activation between control and experimental groups ( $p=0.014$ ;  $p<0.05$ ) but not among the incremental duration of acute stress. However, MC activation was not different between control and experimental groups in the thalamus.

**Conclusion.** Acute stress exposure increases MC activation without recruiting further MCs in specific cerebral region but the duration of acute stress itself does not affect the activation level.

**Keywords:** Stress duration, mast cell, thalamus, hippocampus

---

**Korespondensi:** paundralingga.2@buckeyemail.osu.edu

## PENDAHULUAN

Stres, kondisi yang menantang subyek secara emosional dan fisiologis terjadi sehari-hari.<sup>1</sup> Respon stres yang tidak baik dapat menghasilkan depresi dan ansietas, dimana terdapat angka insiden 740 kasus per 100.000 pekerja di Inggris pada tahun 2014/2015 yang mengalami depresi dan ansietas akibat stres oleh pekerjaan.<sup>2</sup> Stres, yang sebelumnya hanya dikaitkan dengan sistem saraf pusat (SSP), diketahui dapat mempengaruhi sistem imun. Sebaliknya, sistem imun juga dapat mempengaruhi SSP.<sup>3,4</sup>

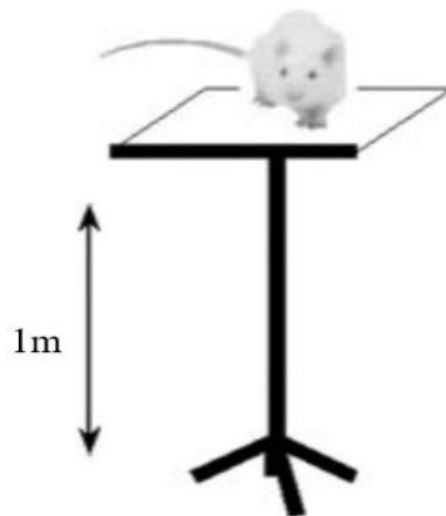
Sel mast adalah salah satu sel imun yang terdapat pada otak mamalia. Sel mast diketahui menyumbang 90% histamin talamus atau 50% histamin otak serta 20-40% serotonin hipokampus, menandakan kepentingannya dalam menjaga homeostasis SSP.<sup>4,5</sup> Sel mast menyimpan mediator seperti histamin dan serotonin dimana aktivasi sel mast dapat mengakibatkan pelepasan mediator dalam jumlah tinggi secara cepat.<sup>6</sup> Hal ini memungkinkan bahwa aktivitas sel mast otak berdampak besar pada sistem neuropsikiatri. Melihat besarnya peran sel mast otak terhadap SSP, perlu diteliti faktor-faktor yang mempengaruhi aktivasi sel mast otak.

Di otak, sel mast diketahui dapat mengalami aktivasi oleh stres akut yaitu melalui pelepasan CRH, neurotensin dan *substance P* oleh respon stres akut.<sup>7,8</sup> Respon stres akut tersebut dapat dipengaruhi oleh durasi pemaparan stresor.<sup>9,10</sup> Penelitian pendahuluan telah menyatakan bahwa peningkatan durasi pemaparan stresor akut dapat meningkatkan CRH plasma dengan signifikan.<sup>11</sup> Selain itu, CRH dapat meningkatkan ekspresi reseptor neurotensin dan sebaliknya, neurotensin dapat meningkatkan ekspresi reseptor CRH di sel mast memungkinkan terjadinya sensitisasi.<sup>12</sup> Hal-hal tersebut mengindikasikan terjadinya peningkatan aktivasi sel mast bersamaan tiap peningkatan durasi pemaparan stres akut.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni secara *in vivo* dengan *randomized post-test only controlled group design*. 20 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* berusia 6 minggu yang telah lolos kriteria inklusi dan eksklusi serta telah mengalami aklimatisasi selama 14 hari dengan siklus 12 jam gelap 12 jam terang setiap harinya

dibagi menjadi 4 kelompok secara randomisasi. Kelompok tersebut adalah: kelompok kontrol, kelompok 30 menit paparan stresor, kelompok 60 menit paparan stresor, dan kelompok 90 menit paparan stresor. Alat penginduksi stres akut sesuai dengan deskripsi Daeng, yaitu sebuah *platform* transparan yang tidak stabil setinggi 1 meter dibawah lampu 60 watt.<sup>11</sup> Tiap tikus diletakkan diatas alat penginduksi stres sesuai kelompok perlakuannya, kemudian segera dilakukan eutanasia dengan cara dislokasi vertebra cervicalis dilanjutkan pembedahan untuk mengambil otaknya. Pada kelompok perlakuan, tikus dilakukan eutanasia pada waktu yang acak. Otak tikus yang diambil diletakkan pada larutan formalin dan dikirim ke Laboratorium Anatomi Histologi FKUB untuk diproses dengan pewarnaan *toluidine blue*.

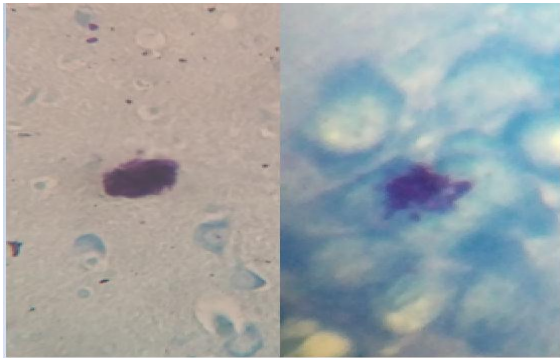


Gambar 1. Alat penginduksi stres tikus

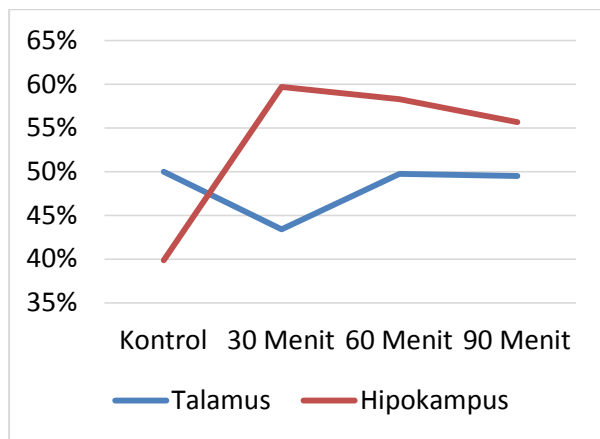
Preparat histologi yang telah dibuat kemudian diamati dibawah mikroskop dan diidentifikasi serta dihitung sel mastnya di regio hipokampus dan talamus.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Setiap tikus yang diletakkan diatas alat penginduksi stres akut mengalami *freezing*, piloreksi, defekasi dan urinasi, yang merupakan tanda-tanda stres akut pada tikus. Pada hasil penghitungan, tidak didapatkan perbedaan signifikan ( $p > 0,05$ ) jumlah total sel mast pada talamus ( $p = 0,446$ ) dan hipokampus ( $p = 0,850$ ).



**Gambar 2.** Sel mast yang tidak mengalami aktivasi (kiri) dan sel mast yang mengalami aktivasi (kanan)



**Gambar 3.** Grafik persentase aktivasi sel mast di hipokampus dan talamus

Pada talamus, tidak didapatkan perubahan persen aktivasi sel mast di seluruh kelompok perlakuan dan kontrol ( $p=0,748$ ;  $p>0,05$ ).

**DISKUSI**

Sesuai dengan penelitian pendahuluan oleh Daeng, didapatkan bahwa peningkatan durasi stres akut tidak merubah jumlah sel mast.<sup>11</sup> Hal ini memungkinkan bahwa hingga 90 menit pemaparan stres akut, belum terjadi rekrutmen sel mast perifer ke otak sehingga pada peningkatan produk mediator sel mast di otak saat stres bukan disebabkan oleh peningkatan jumlah sel mast, namun mungkin disebabkan oleh aktivasi sel mast yang meningkat.

Data penelitian menunjukkan bahwa kondisi stres akut dapat mengakibatkan aktivasi sel mast hipokampus. Sel mast yang teraktivasi dapat mengakibatkan pelepasan mediator yang mempengaruhi SSP, khususnya serotonin dan histamin. Pada hipokampus, peningkatan kadar

serotonin dan histamin dapat berdampak kepada sistem mediasi emosi dan memori.<sup>13,14,15</sup> Hasil ini memungkinkan sel mast berperan dalam peningkatan kemampuan ingatan pada kondisi stres akut.<sup>16</sup> Selain itu, mediator-mediator yang terlepas saat stres oleh sel mast dapat meningkatkan permeabilitas *blood brain barrier* (BBB) memungkinkan terjadinya metastase *mammary adenocarcinoma* ke otak.<sup>17,18,19</sup>

Walaupun stres akut mengakibatkan peningkatan aktivasi sel mast, peningkatan durasi stres akut tidak merubah aktivasi sel mast secara signifikan. CRH memang dibutuhkan untuk aktivasi sel mast, namun hanya hingga titik aktivasi tertentu sehingga peningkatan CRH plasma karena peningkatan durasi stres akut tidak merubah persen aktivasi sel mast.<sup>8,11</sup> Hal ini menandakan bahwa ada mekanisme *ceilling effect* yang mungkin disebabkan oleh *negative feedback* dari *corticosterone* yang dapat menstabilkan sel mast.<sup>20</sup>

Melihat persen aktivasi yang tetap pada durasi 30 hingga 90 menit, dapat dikatakan bahwa pelepasan produk sel mast berjalan dengan kecepatan yang sama pada tiap durasi stres akut. Pernyataan ini sesuai dengan penelitian sebelumnya dimana kadar serotonin otak tetap pada durasi 1, 2, dan 4 jam *restraint stress*.<sup>21</sup>

Pada talamus, stres akut tidak mengakibatkan peningkatan aktivasi sel mast di seluruh kelompok. Hasil ini mirip dengan penelitian terdahulu menggunakan stres isolasi sosial dimana tikus kontrol dan tikus yang diinduksi stres tidak memiliki perbedaan persen aktivasi sel mast.<sup>22</sup> Penyebab dari hal ini belum diketahui, namun mungkin disebabkan oleh adanya faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas sel mast di bagian otak tertentu yang perlu diteliti lebih lanjut.

**SIMPULAN**

Penelitian ini berkesimpulan bahwa kondisi stres akut mengakibatkan peningkatan aktivasi sel mast di hipokampus, namun peningkatan durasi pemaparan stresor akut tidak mempengaruhi persen aktivasi sel mast hipokampus. Pada regio talamus, kondisi stres akut tidak mengakibatkan perubahan aktivasi sel mast yang signifikan. Hal ini perlu diteliti lebih lanjut.

## DAFTAR PUSTAKA

1. McEwen B. Physiology and Neurobiology of Stress and Adaptation: Central Role of the Brain. *Physiological Reviews*. 2007; 87(3):873-904.
2. Work related Stress, Anxiety and Depression Statistics in Great Britain 2016 [Internet]. HSE. 2016 [cited 10 November 2016]. Available from: <http://www.hse.gov.uk/statistics/causdis/stress/stress.pdf>
3. Glaser R, Kiecolt-Glaser J. How stress damages immune system and health. *Discov Med*. 2016; 5(26):165-9.
4. Nautiyal K. Mast cells affect brain physiology and behavior [Internet]. Colombia Academic Commons. 2011 [cited 10 November 2016]. Available from: <https://academiccommons.columbia.edu/catalog/ac%3A131582>.
5. Pang X, Letourneau R, Rozniecki J, Wang L, Theoharides T. Definitive characterization of rat hypothalamic mast cells. *Neuroscience*. 1996; 73(3):889-902.
6. Ringvall M, Rönnberg E, Wernersson S, Duelli A, Henningson F, Åbrink M et al. Serotonin and histamine storage in mast cell secretory granules is dependent on serglycin proteoglycan. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2008; 121(4):1020-1026.
7. Li W, Guo T, Liang D, Sun Y, Kingery W, Clark J. Substance P Signaling Controls Mast Cell Activation, Degranulation, and Nociceptive Sensitization in a Rat Fracture Model of Complex Regional Pain Syndrome. *Anesthesiology*. 2012; 116(4):882-895.
8. Theoharides T, Spanos C, Pang X, Alferes L, Ligris K, Letourneau R et al. Stress-induced intracranial mast cell degranulation: a corticotropin-releasing hormone-mediated effect. *Endocrinology*. 1995; 136(12):5745-5750.
9. Belda X, Fuentes S, Daviu N, Nadal R, Armario A. Stress-induced sensitization: the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and beyond. *Stress*. 2015; 18(3):269-279.
10. Dhabhar F. Enhancing versus Suppressive Effects of Stress on Immune Function: Implications for Immunoprotection and Immunopathology. *Neuroimmunomodulation*. 2009; 16 (5): 300-317.
11. Daeng B, Paundralingga O, Widodo A, Sujuti H, Mintaroem K, Widjajanto E. Cite a Website - Cite This For Me [Internet]. *Aseanjournalofpsychiatry.org*. 2016 [cited 10 November 2016]. Available from: <http://aseanjournalofpsychiatry.org/index.php/aseanjournalofpsychiatry/article/download/367/242>.
12. Alysandratos K, Asadi S, Angelidou A, Zhang B, Sismanopoulos N, Yang H et al. Neurotensin and CRH Interactions Augment Human Mast Cell Activation. *PLoS ONE*. 2012; 7(11):e48934.
13. Nautiyal K, Dailey C, Jahn J, Rodriguez E, Son N, Sweedler J et al. Serotonin of mast cell origin contributes to hippocampal function. *European Journal of Neuroscience*. 2012; 36(3):2347-2359.
14. Zarrindast M, Malekmohamadi N, Tabaei S, Ahmadi S. Intracerebroventricular Injection of Histamine Induces State-Dependency through H1 Receptors. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2006; 4:255-260.
15. Alvarez E. Histaminergic systems of the limbic complex on learning and motivation. *Behavioural Brain Research*. 2001; 124(2):195-202.
16. Henckens M, Hermans E, Pu Z, Joels M, Fernandez G. Stressed Memories: How Acute Stress Affects Memory Formation in Humans. *Journal of Neuroscience*. 2009; 29(32):10111-10119.
17. Esposito P, Gheorghe D, Kandere K, Pang X, Connolly R, Jacobson S et al. Acute stress increases permeability of the blood-brain-barrier through activation of brain mast cells. *Brain Research*. 2001; 888(1):117-127.
18. Theoharides T, Rozniecki J, Sahagian G, Jacobson S, Kempuraj D, Conti P et al. Impact of stress and mast cells on brain metastases. *Journal of Neuroimmunology*. 2008; 205(1-2):1-7.
19. Rozniecki J, Sahagian G, Kempuraj D, Tao K, Jacobson S, Zhang B et al. Brain metastases of mouse mammary adenocarcinoma is increased by acute stress. *Brain Research*. 2010; 1366:204-210.
20. Coutinho A, Brown J, Yang F, Brownstein D, Gray M, Seckl J et al. Mast Cells Express 11 $\beta$ -hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1: A Role in Restraining Mast Cell Degranulation. *PLoS ONE*. 2013; 8(1):e54640.

21. Bhattacharya SBhattacharya D. Effect of restraint stress on rat brain serotonin. *Journal of Biosciences*. 1982; 4(3):269-274.
22. Bugajski A, Chłap Z, Gądek-Michalska, Bugajski J. Effect of isolation stress on brain mast cells and brain histamine levels in rats. *Agents and Actions*. 1994; 41 (S1) : C75 - C76.