فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۵ (٤)، ٥٤٥ – ٥٦١
زمستان ۱۳۹۰

فیزیولوژی و فارماکولوژی

اثر استرسهای اجتماعی بر رفتار درد، سلول‌های ایمنی و غلظت سرمی فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا، اینترلوکین–۱ و اینترلوکین–۶ در موشهای ماده Balb/C

مرجان آقاجانی[۱]، محمدرضا واعظ مهدوی[۱*]، طوبی غضنفری[۲]، محسن خلیلی[۱]، آرمین عظیمی[۱]، سعید ارباب سلیمانی[۱]، شیرین مهدی‌دوست[۱]
۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران
۲. گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران

دریافت: ۲۸ شهریور ۹۰ پذیرش: ۱۵ دی ۹۰

چکیده

مقدمه: بر طبق مطالعات انسانی، نابرابری و بی‌عدالتی اجتماعی آثار نامطلوبی بر سطح سلامت افراد و جامعه بر جای می‌گذارد. در مطالعه حاضر اثرات فقر و نابرابری غذایی به همراه تفاوت در موقعیت اجتماعی بر دریافت درد و تغییرات فاکتورهای ایمونولوژیک در موشهای Balb/C با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات مورد بررسی قرار گرفت.

روش ها: ۴۸ موش ماده Balb/C در ۶ گروه قرار گرفته و استرسهای مختلف (محرومیت، نابرابری غذایی، و تغییر همخانه) به مدت ۲ هفته طبق پروتکل مربوطه در این گروه‌ها اعمال شد. تست فرمالین انجام شد و سپس تست MTT برای بررسی فعالیت حیاتی ماکروفاژهای صفاق و لنفوسیت‌های طحال و سپس بررسی سیتوکاین‌های پیش-التهابی سرم (TNF-α ،IL- 1،IL-6) انجام گرفت.

یافته ها: در این مطالعه کاهش قابل توجهی در فاز مزمن تست فرمالین پس از اعمال استرس محرومیت و نابرابری غذایی در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت (P<۰/۰۵)، و این کاهش در موش‌های تحت استرس نابرابری غذایی بیشتر از موش‌های ایزوله بود؛ در حالیکه استرس تغییر همخانه پاسخ درد را تحت تاثیر قرار نداده بود. همچنین، کاهش فعالیت حیاتی ماکروفاژهای صفاقی، و افزایش فعالیت حیاتی لنفوسیت‌های طحال و غلظت سیتوکاین‌های سرم در کلیه گروههای تحت استرس در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد.

نتیجه گیری: اگرچه فقر غذایی و نابرابری اجتماعی می‌توانند سبب القا آنالژزی شوند، اما شرایطی نظیر عدم ثبات اجتماعی رفتار درد را تحت تاثیر قرار نمی‌دهند. در عین-حال تمام استرس‌های اعمال شده منجر به کاهش فعالیت حیاتی ماکروفاژهای صفاقی و افزایش فعالیت حیاتی لنفوسیت‌های طحالی بعلاوه ایجاد طرح پیش التهابی استرس شد.

واژه‌های کلیدی: استرس‌های اجتماعی، بی‌دردی، سیتوکاین، ماکروفاژ، لنفوسیت

مقدمه

یک میلیارد نفر از مردم جهان گرفتار فقر شدید[۱] هستند: سوءتغذیه، بی‌سوادی و میانگین پایین عمر از مشخصه‌های اصلی زندگی فقرا است که در آن گاهی هیچ نشان مشخصی از کرامت انسانی باقی نمی‌ماند. در اغلب جوامع طول عمر افراد فقیر نسبت به افراد مرفه، کوتاه‌تر و تندرستی آنها کم‌تر است. در جهان معاصر از هر چهار نفر، یک نفر دچار فقر است. افزایش روز افزون فقر در جهان و نیز آماری که بیان می‌کند بیش از ۱/۲ میلیارد نفر در جهان به فقر شدید (درآمد کمتر از

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: vaezmahdavi@shaded.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj
2. Extreme Poverty

Archive of SID
www.SID.ir

فقیر نسبت به افراد مرفه، کوتاه‌تر و تندرستی آنها کم‌تر است. در جهان معاصر از هر چهار نفر، یک نفر دچار فقر است. افزایش روز افزون فقر در جهان و نیز آماری که بیان می‌کند بیش از ۱/۲ میلیارد نفر در جهان به فقر شدید (درآمد کمتر از یک دلار در روز) دچار هستند، اهمیت موضوع فقر، سلامتی و توسعه را روشن می‌سازد [۵۰]. فقر یک استرس پایدار اجتماعی است که مکانیسم‌های مرتبط با استرس مزمن را در بدن فعال می‌سازد و بر اساس شواهد موجود آثار دراز مدتی بر بافت ها و اندام های مختلف اعمال می کند؛ که از آن جمله می‌توان به اثرات آن بر محور HPA[1] (از طریق اختلال در میزان ترشح کورتیزول و دِهیدرو اپی اندروسترون سولفات و پیدایش پدیده فرار کورتیزولی) و سیستم التهابی (طریق اختلال در CRP[2] و IL-6 و سایر مدولاتورهای سیستم ایمنی) اشاره نمود. این آثار باعث صدمات درازمدتی بر سیستم‌های بیولوژیک بدن می‌شود که اختلالات سلامتی، افزایش بیماری‌ها، آسیب‌پذیری در برابر عفونت‌ها اختلالات تکثیر سلولی و سرطان‌ها، و نهایتاً کاهش امید به زندگی را در پی خواهد داشت [۵۱]. بر این اساس فردی که به دلیل فقر، ناگزیر چند شغل دارد و یا شغل او در زمره مشاغل سخت قرار می‌گیرد، به دلیل مواجهه با سطوح پایدار استرس مزمن در معرض انواع بیماریها قرار می‌گیرد [۵۶]. مطالعه‌ای انجام گرفته در انگلستان بیان می‌کند گروه‌هایی که در طبقات اجتماعی پایین قرار دارند، از انواع گسترده‌ای از بیماری‌ها رنج می‌برند و میزان مرگ و میر ناشی از بیماری و صدمات اجتماعی در آنها در هر مرحله‌ای از زندگی زیاد است [۴۱]. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که بی‌عدالتی، کشنده‌تر از بسیاری از بیماری‌های خطرناک شناخته‌شده امروزی است. پیشرفت‌های قرن حاضر باعث عمیق‌تر شدن شکاف طبقاتی و شدت یافتن بی‌عدالتی در میان اقشار جامعه می‌شود [۲۳]. ویلکینسون بر این باور است که نابرابری در درآمد سبب ایجاد استرس‌های روانی- اجتماعی شده و این استرس‌ها به نوبه خود سلامتی افراد را به خطر می‌اندازند [۵۹]. شرایط اجتماعی- اقتصادی نامناسب در سال‌های نخستین زندگی می‌تواند در آینده خطر بیماری‌های قلبی- عروقی، بیماری‌های تنفسی و برخی سرطان‌ها را افزایش دهد. میزان مرگ و میر بالا با نابرابری و محرومیت‌های واضح اجتماعی- اقتصادی در سلامت همراه شده است، به نحوی‌که شیوع بیماری‌ها در سطوح پایین اجتماعی- اقتصادی چندین برابر بیشتراست [۵۷،۳۲،۱۶،۱۳]. تمامی این مطالب نشانگر این است که سطح پایین اجتماعی- اقتصادی که با سطح درآمد، کار، شرایط سکونت و آموزش ارتباط مستقیم دارد، باعث فعال‌شدن مکانیسم‌های مرتبط با استرس در فرد نیز می‌شود [۴۰].

توجیهات متعددی جهت توضیح ارتباط بین وضعیت اجتماعی- اقتصادی افراد و سلامتی آنها وجود دارد. یکی از این مکانیسم‌ها که در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده‌است، استرس است. مطالعات آزمایشگاهی مربوط به ارتباط اجتماعی و سلامتی در زمینه‌ای از استرس انجام می‌شوند؛ بر این باور است که حیوانات متعلق به طبقات متفاوت اجتماعی، الگوهای متفاوتی از استرس را تجربه می‌کنند [۱۲].

در دنیای انسانها و حیوانات استرسهای اجتماعی می‌تواند رفتار افراد و پاسخ آنها به محرک‌های بیرونی را تحت تاثیر قرار دهد [۲۹]. نشان داده شده است که استرس مزمن مرتبط با فقر، سیستم عصبی را تحت تاثیر قرار داده و مانع از بهبود شرایط افراد شده و سیکل فقر را بدتر می‌کند [۴۷]. از آنجا که در طی ۲۰ سال گذشته گرایش زیادی برای بررسی ارتباط بین درد مزمن و پاتولوژی بیماریهای اعصاب و روان وجود داشته است، بسیاری از محققان بر مکانیسم‌های حسی درد در حیوانات تمرکز کرده‌اند [۱]. مطالعات متعددی بر ارتباط بین موقعیت اقتصادی-اجتماعی افراد و حس درد تاکید کرده‌اند [۲۸،۱۴،۱۱]. شواهد متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد تحت شرایط استرس حاد نظیر فقر غذایی کوتاه مدت پاسخ درد حاد سرکوب می‌شود [۶۰،۲۲]. با این وجود نه اثرات فقر غذایی طولانی مدت و نه پاسخ درد مزمن چندان مورد بررسی قرار نگرفته است. مطالعات در زمینه استرس مزمن نشان می‌دهد که استرس بیشتر از آنکه هایپرآلژزی ایجاد کند سبب بروز هیپوآلژزی می‌شود [۱]، اما در بررسی‌هایی که در مدل‌های حیوانی درد صورت گرفته، افزایش پاسخ درد تحت شرایط استرس نیز مشاهده شده است [۳،۲]. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که استرس‌های اجتماعی و غیر اجتماعی می‌توانند سیستم ایمنی را تحت تاثیر قرار دهند [۵۳،۴۴،۱۰،۷]. تحقیقات

1. Hpothalamic-Pituitary-Adrenocortical
2. C-Reactive Protein

Archive of SID
www.SID.ir

اخیر در زمینه سایکونوروایمونولوژی بیان می‌کند که استرس روانی مرتبط با فقر منجر به بهم خوردن تنظیم محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال و در نتیجه افزایش و یا کاهش فعالیت سیستم ایمنی ذاتی و اختصاصی می‌شود [۳۶،۶]. نشان داده شده است که افسردگی و دیگر عواطف منفی و نیز مواجهه با استرسورها همچنین می‌تواند منجر به افزایش غلظت پلاسمایی و مغزی سیتوکاین‌های پیش‌التهابی به ویژه IL-1 و IL-6 شود [۳۸،۳۰].

مطالعات همکاران ما نشان داده است که حیوانات همانند انسانها تفاوت در موقعیت اجتماعی را از طریق یک پدیده زیستی- روانی- عصبی- اجتماعی[1] درک می‌کنند [۳۷،۲۴]؛ لذا در مطالعه حاضر به بررسی اثرات بیولوژیک ناشی از انواع استرس‌های اجتماعی (که آثار سوئی بر سطح سلامت افراد و جامعه می‌گذارد) بر سطح دریافت درد و تغییرات فعالیت حیاتی ماکروفاژهای صفاقی و لنفوسیت‌های طحال و نیز تغییرات غلظت سرمی سیتوکاین‌های پیش‌التهابی نظیر اینترلوکین ۶، اینترلوکین ۱و فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا (TNF-α) در گروه‌های مورد مطالعه پرداخته شده است. بایستی توضیح داد که این مطالع بخشی از یک مطالعه گسترده در هر دو جنس نر و ماده می‌باشد و در آن پس از بررسی اثرات استرس‌های اجتماعی ذکر شده بر رفتار درد و پاسخ ایمنی، به بررسی اثرات همزمان این استرسها و تفاوت‌های جنسیتی نیز پرداخته شده است و در آینده نزدیک مقالات مرتبط با این تفاوت‌های جنسیتی ارائه خواهد شد، به علاوه از موش‌های Balb/C در این مطالعه استفاده شد چراکه بخشی از اهداف ما بررسی پاسخ ایمنی بود و نیاز به قرابت ژنتیکی موش‌ها برای حصول نتیجه از تعداد کمتری نمونه وجود داشت [۴۲]. همچنین با توجه به اینکه طول مدت این مطالعه بیش از ۴-۵ روز بود، اعمال استرس‌های مختلف در طی سیکل استروس موش‌های ماده (که حدودا ۴-۵ روز است [۳۳]) نیز صورت می‌گرفت.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، حیوان‌های مورد مطالعه ۴۸ سر موش ماده Balb/c با محدوده سنی ۸ تا ۱۰ هفته بودند. پس از تهیه غذای حیوان‌ها، خوراک روزانه آنها وزن شده و تا زمان شروع مطالعه حیوان‌ها محدودیتی در دریافت آب و غذا نداشتند. محل نگهداری موش‌ها به دلیل دوری از صدا، نور کافی و دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد دارای شرایط مطلوبی بود. لازم به ذکر است که تمام پروسیجرهای به کار رفته در این مطالعه منطبق با اصول استاندارد و اخلاقی مراقبت از حیوانات ازمایشگاهی در کمیته استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی در دانشگاه شاهد (شماره ۱۴/۸۷/آ/پ) برای کاهش درد و نیز خونگیری با شرایط استاندارد می‌باشد [۶۳،۲۵].

قبل از شروع دوره مطالعه تمام موش‌ها وزن شده و در شش گروه (هر گروه ۸ موش ماده) به صورت تصادفی تقسیم شدند. در طی دو هفته اول از مطالعه هیچ‌گونه محدودیت و استرسی اعمال نمی‌شد و فقط غذای روزانه آنها اندازه‌گیری شده و در اختیار حیوان‌ها قرار می‌گرفت، به این منظور که بتوانیم مقدار غذایی که در طی شبانه روز حیوان بدون محدودیت مصرف می‌کند را اندازه گیری کنیم. مشخص شد به طور متوسط هر حیوان روزانه ۴/۵ گرم غذا مصرف می‌کند. شش گروه مزبور در دو اتاق قرار گرفتند: چهار گروه در اتاق مشاهده و دو گروه در اتاق ایزوله. هر گروه در قفس‌هایی در چهار طبقه قرار می‌گرفتند تا به این ترتیب امکان حرکت و تکاپوی حیوان‌ها فراهم باشد.

پس از گذشت دو هفته، دوره اصلی مطالعه که دوره اعمال «شرایط متفاوت اجتماعی» به مدت ۱۴روز بود، شروع شد. در طول دوره آزمایش، حیوان‌ها محدودیتی برای دریافت آب نداشته و شرایط محل زندگی از نظر دما و نور یکسان بود. شرایط اجتماعی مختلف شامل محرومیت غذایی، نابرابری غذایی و تغییر هم‌خانه به ترتیب ذیل در گروه‌های مختلف اعمال شد:

گروه ۱: این گروه به عنوان گروه شاهد در نظرگرفته شد، هیچ‌گونه استرسی به این گروه اعمال نمی‌شد و در تمام طول دوره مطالعه از غذای کامل و هم‌خانه ثابت برخوردار بوده و این گروه در کنار سایر گروه‌ها در یک اتاق قرار داشت. [گروه کنترل]

گروه ۲: این گروه محروم از غذای کامل بوده و هر حیوان

1. Bio-Psycho-Neuro-Social

Archive of SID
www.SID.ir

در روز یک سوم از غذای کامل را دریافت می‌کرد اما هم خانه آنها ثابت بود، این گروه در کنار سایر گروه‌ها در اتاق مشاهده قرار می‌گرفت. [گروه محرومیت غذایی (مشاهده)]

گروه ۳: این گروه محروم از غذای کامل بوده و هر حیوان در روز یک سوم از غذای کامل را دریافت می‌کرد اما هم خانه آنها ثابت بود. حیوان‌های این گروه در اتاق ایزوله قرار گرفته و درب اتاق بسته بود (در نتیجه غذا خوردن دیگران رامشاهده ننموده و بوی غذا را احساس نمی‌کرد. این گروه محرومیت غذایی را بدون احساس تبعیض تحمل می‌کرد). [گروه محرومیت غذایی (ایزوله)]

گروه ۴: این گروه محروم از غذای کامل بوده و هر حیوان در روز یک سوم از غذای کامل را دریافت می‌نمود اما هم خانه آنها ثابت نبوده و هر ۳ روز یکبار تغییر می‌کرد. این گروه در کنار سایر گروه‌ها قرار داشت. [گروه محرومیت غذایی به همراه تغییر هم‌خانه (مشاهده)]

گروه ۵: این گروه محروم از غذای کامل بوده و هر حیوان در روز یک سوم از غذای کامل را دریافت می‌نمود اما هم خانه آنها ثابت نبوده و هر ۳ روز یکبار تغییرمی‌کرد. حیوان‌های این گروه در اتاق ایزوله قرار گرفته و درب اتاق بسته بود. در این گروه نظیر گروه ۳ محرومیت غذایی بدون احساس تبعیض تجربه می‌شد. [گروه محرومیت غذایی به همراه تغییر هم‌خانه (ایزوله)]

گروه ۶: این گروه برخوردار از غذای کامل بوده ولی هم خانه آنها مرتبا هر ۳ روز یکبار تغییر می‌کرد و در اتاق در کنار سایر گروه‌ها نگهداری می‌شدند. در این گروه اثر خالص فقدان ثبات در محیط اجتماعی بررسی می‌شد. [گروه تغییر هم‌خانه]

یک روز بعد از اتمام دوره اعمال استرس‌های اجتماعی ذکر شده، تست درد با استفاده از تزریق زیرپوستی فرمالین ۲٪ صورت گرفت، به این ترتیب که:

نیم ساعت قبل از تزریق فرمالین، موش‌ها به طور انفرادی در ظرف شیشه‌ای برای مطالعه رفتار درد قرار می‌گرفتند تا به شرایط عادت کنند. سپس ۲۰ میکرولیتر فرمالین ۲٪ به سطح پلانتار از پنجه عقبی هر موش تزریق شده و بلافاصله بعد از تزریق موش در ظرف شیشه‌ای قرار می‌گرفت. رفتارهای زیر هر ۱۵ ثانیه به مدت ۶۰ دقیقه مشاهده شده و نمره داده می‌شد:

- ✓ چنانچه حیوان پنجه تزریق شده را به شدت لیسیده و تکان می‌داد و یا گاز می‌گرفت، نمره ۳+ داده می‌شد.
- ✓ چنانچه پنجه تزریق شده را بدون هیچگونه تماسی با کف صفحه آزمایش بالا نگه می‌داشت، نمره ۲+ داده می‌شد.
- ✓ چنانچه پنجه تزریق شده مماس با کف قرار داده شده و یا حیوان وزن کمی روی آن اعمال می‌کرد، نمره ۱+ داده می‌شد.
- ✓ چنانچه در پنجه تزریق شده حیوان هیچگونه ناراحتی مشاهده نمی‌شد و حیوان گاه‌گاه وزن خود را روی آن انداخته و در راه رفتن به سهولت از آن استفاده می‌کرد، نمره ۰ داده می‌شد.

میانگین این نمرات در بلاک‌های ۳ دقیقه‌ای برای هر حیوان در نظرگرفته شد (به این ترتیب این دوره مشاهده رفتار درد به ۲۰ بلاک ۳ دقیقه‌ای تقسیم شد)، و در جدول داده‌های مربوط به هر گروه قرار گرفت، سپس میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) هر گروه از حیوان‌ها محاسبه شد.

به همین ترتیب، برای بررسی درد در فاز حاد، اینترفاز و فاز مزمن پاسخ به فرمالین، میانگین نمرات داده شده در دقایق ۱ تا ۶ برای هر حیوان به عنوان فاز حاد، میانگین نمرات داده شده در دقایق ۷ تا ۱۰ برای هرحیوان به عنوان اینترفاز و میانگین نمرات داده شده در دقایق ۱۵ تا ۳۵ بعد از تزریق فرمالین به عنوان فاز مزمن در نظر گرفته شد [۶۲،۵۵] و در جدول داده-های مربوط به هر گروه قرار گرفت. سپس میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) این فازهای درد برای هر گروه از حیوان‌ها محاسبه شد.

بعد از انجام تست درد با فرمالین، موش‌ها با استفاده از یک پنبه آغشته به اتر به میزان خفیفی بیهوش می‌شدند، در ادامه موش‌ها را روی یونولیت فیکس نموده و با پنبه آغشته به الکل پوست ناحیه شکم و سینه ضدعفونی می‌شد. با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی از قلب حیوان خون گرفته و داخل لوله آزمایش ریخته می‌شد. سپس لوله‌ها را سانتریفوژ کرده (به مدت ۱۰دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه) و سرم خون با استفاده از سمپلر گرفته می‌شد و در میکروتیوب ریخته و در نهایت در یخچال ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد از تهیه کیت‌های موشی مورد نیاز (R&D system)، غلظت

Archive of SID
www.SID.ir

سیتوکینها (اینترلوکین ۱و اینترلوکین ۶ و TNF-α) در این سرم‌ها با تکنیک الایزا مورد بررسی قرار گرفت.

بعد از خونگیری از قلب، حیوان کاملا بیهوش شده و مجددا ناحیه شکم و سینه را ضدعفونی کرده و تحت شرایط استریل و زیر هود، پوست ناحیه شکم و سینه موش بدون آسیب به صفاق باز شد، سپس به آرامی و بدون آنکه آسیبی به احشای شکمی موش وارد شود، ۵ سی‌سی سرم فیزیولوژیک سرد حدود ۶ درجه سانتی‌گراد به داخل صفاق هر موش تزریق شده و بعد از لحظاتی لاواژ شد.

سوسپانسیون حاوی ماکروفاژهای صفاقی جمع‌آوری شد و شمارش سلول‌های ماکروفاژ صورت گرفت سپس جهت انجام کشت سلولی، با توجه به ماکروفاژهای شمارش شده زیر میکروسکوپ نوری، حجم‌های متفاوت از هر نمونه موش ولی با تعداد سلول‌های یکسان برای تمامی نمونه‌ها، داخل پلیت-های ۹۶ خانه ریخته شد. به‌طوری‌که برای هر موش تعداد ۱۰ چاهک اختصاص داده شده و به هر چاهک تعداد ۴۰۰ هزار سلول منتقل شد [۴۵،۲۶].

بعد از جمع‌آوری سوسپانسیون حاصل از هر موش که حاوی ماکروفاژهای صفاقی بودند، تحت شرایط استریل با باز کردن صفاق، طحال از هر موش جدا و در پتری دیش استریل قرار داده شد، سپس با استفاده از تزریق محیط RPMI به داخل بافت طحال و کوبیدن آن با نوک پنس، سلول‌های طحال جمع‌آوری شده و به لوله استریل منتقل شد. سوسپانسیون حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. بعد از دور ریختن مایع رویی، ۲ سی‌سی محلول تریس (Tris) ۱۰٪ در کلرید آمونیوم ۰/۸۳٪ اضافه شد و محلول را تکان داده، ۲ دقیقه صبر کردیم تا گلبول‌های قرمز لیز شوند.

بعد از این ۲ دقیقه، ۲ سی‌سی سرم جنین گاوی ۱۰٪ اضافه شد و سپس سانتریفوژ به همان ترتیب قبلی انجام گرفته و بعد از خالی کردن محلول رویی ۲ سی‌سی محیط جهت شستشو اضافه شد. مجدداً این لوله‌ها را داخل سانتریفوژ گذاشته و سپس با دور ریختن مایع رویی، ۲ سی سی از محیط RPMI حاوی سرم جنین گاوی ۱۰٪ اضافه شد. در ادامه با تهیه این سوسپانسیون شمارش و سپس کشت لنفوسیت‌های طحال صورت گرفت [۴۵]. لازم به ذکر است که با توجه به اینکه در محیط‌های کشت سلولی حضور میتوژن‌ها سبب القا فعالیت میتوژیک در ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها شده و سبب افزایش سنتز محصولات سلولی می‌شود، لذا پس از کشت سلولی ۵ میکرولیتر از محرک LPS[1] (جهت تحریک ماکروفاژهای کشت داده شده) و ConA[2] (جهت تحریک لنفوسیت‌های کشت داده شده) به ۵ چاهک از ۱۰ چاهک اختصاص داده شده به هر موش در پلیت ۹۶ خانه‌ای مربوط به کشت سلولی اضافه گردید [۴۵].

بعد از گذشت ۲۳ ساعت از کشت ماکروفاژها و ۴۸ ساعت از کشت لنفوسیت‌های طحال فعالیت حیاتی سلول‌های طحال و ماکروفاژها با استفاده از تست MTT[3] توسط دستگاه جذب-سنج خواننده الایزا در طول موج ۴۹۲ نانومتر سنجیده شد [۴۵].

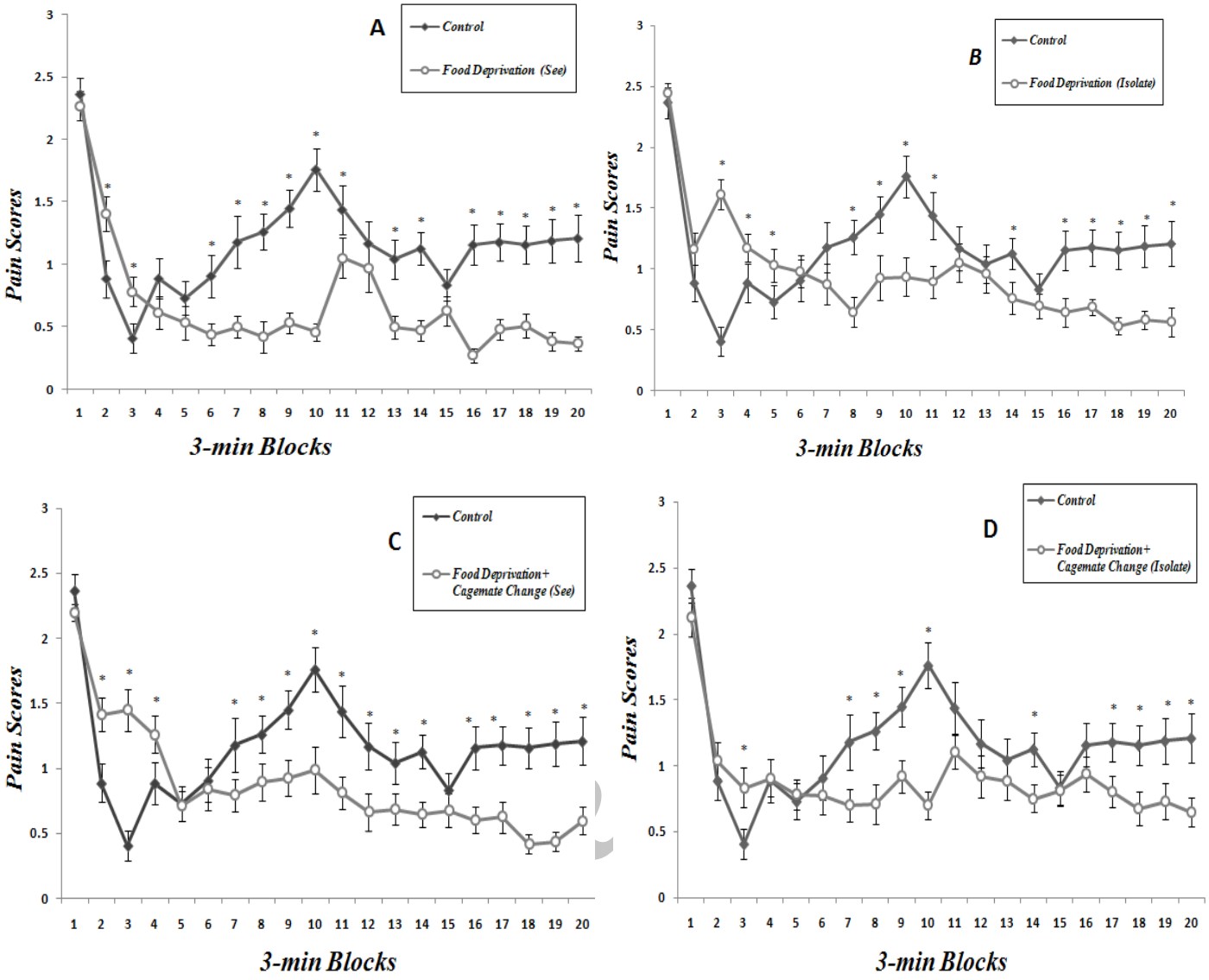
نتایج تمامی آزمایشات توسط نرم‌افزار سیگما استات ارزیابی شد، به طوری‌که در صورت توزیع پارامتریک داده‌ها، آزمون ANOVA یک طرفه و در صورت توزیع غیر نرمال، آنالیز آماری کروسکال والیس برای مقایسه گروه‌های مورد مطالعه، مورد استفاده قرار گرفت و نتایج بر حسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) گزارش شد و اختلاف با $P<0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری تعریف شد.

یافته ها

همانطور که انتظار می‌رفت، یک منحنی بای‌فازیک از رفتارهای حاصل از تزریق فرمالین در گروه کنترل دیده شد. به طور کلاسیک، اولین پیک پاسخ رفتاری در این بلاک‌های ۳ دقیقه‌ای بیانگر پاسخ به درد حاد بوده، در حالی‌که دومین قسمت از منحنی بیانگر پاسخ به درد مزمن می‌باشد. بین این دو فاز درد، یک اینترفاز وجود دارد که در آن رفتار درد به حداقل می‌رسد. در این ارتباط بلاک‌های مختلف در گروه کنترل با استفاده از آزمون آماری ANOVA یک طرفه تکراری با یکدیگر مقایسه شدند و تفاوت معنادار آماری بین آنها مشاهده شد.

1. Lipo Poly Sacharide
2. Concovalin A
3. 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide

Archive of SID
www.SID.ir

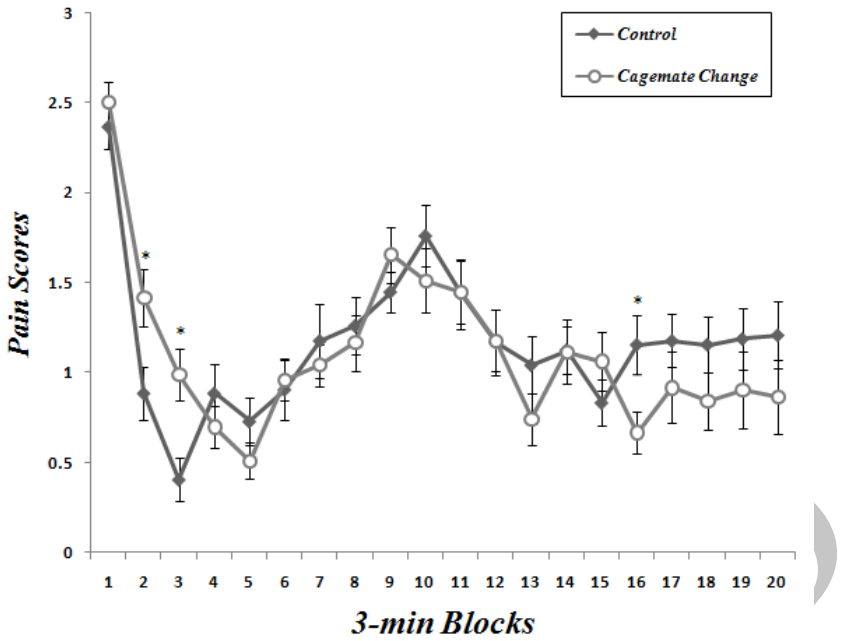


شکل ۱ (A-B-C-D) – تفاوت دریافت درد بعد از تزریق فرمالین بین گروه کنترل و گروه‌های تحت استرس محرومیت و نابرابری غذایی با یا بدون تجربه استرس تغییرهم-خانه در موش‌های ماده را نشان می‌دهد. به طوریکه یک منحنی بای‌فازیک از رفتارهای حاصل از تزریق فرمالین در گروه کنترل مشاهده می‌شود، در حالیکه در گروه‌های تحت استرس محرومیت و نابرابری غذایی (A)، محرومیت غذایی صرف (B)، محرومیت غذایی و تغییر هم‌خانه همراه (C) و بدون (D) نابرابری غذایی پاسخ درد در فاز مزمن کاهش چشمگیری یافته است و پاسخ بای‌فازیک وجود ندارد. نتایج برحسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) نشان داده شده‌است (n=۸ برای هر گروه). *: معیار معنی‌دار بودن تفاوت گروه‌های تحت استرس با P ‹۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

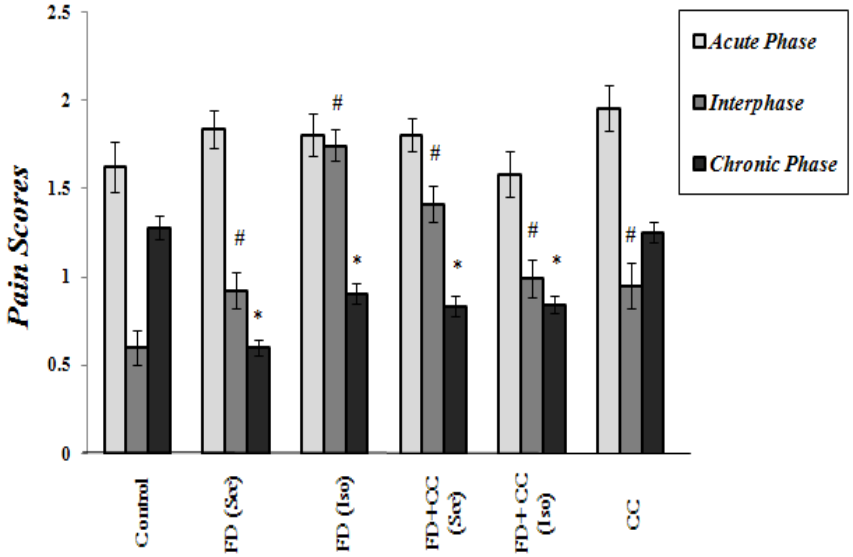
از مقایسه پاسخ درد گروه‌های ۲، ۳، ۴ و ۵ با گروه کنترل می‌توان دریافت که پاسخ درد مزمن در تمام این گروه‌های تحت استرس محرومیت و نابرابری غذایی در صورت وجود و یا عدم وجود استرس تغییر هم‌خانه نسبت به موش‌های گروه کنترل کاهش چشمگیری (P‹۰/۰۵) داشته است (شکل ۱ (A-B-C-D)). شکل ۲ نشان می‌دهد بین گروه کنترل و گروهی که در آن فقط هم خانه حیوان تغییر می‌کرد چندان تفاوتی در بلاک‌های ۳ دقیقه‌ای وجود ندارد جز در بلاک‌های ۲ و ۳ که در آن‌ها پاسخ درد در گروه تغییرهم‌خانه بیشتر از گروه کنترل می‌باشد (P‹۰/۰۵) و این بیان می‌کند استرس تغییر هم‌خانه بر روی درد مزمن در این گروه از موش‌های ماده تاثیری نداشته است.

به طور کلی با توجه به شکل ۳ می‌توان گفت که اعمال استرس‌های محرومیت و نابرابری غذایی در گروه‌های ۱ تا ۴ سبب کاهش معنی‌دار دریافت درد در فاز مزمن پاسخ به فرمالین نسبت به گروه کنترل موش‌های ماده شده است (P‹۰/۰۰۱)، در حالیکه در فاز حاد بین این گروه‌ها وگروه کنترل تفاوتی وجود ندارد؛ به علاوه اعمال این استرس‌ها سبب شده

www.SID.ir



شکل ۲- تفاوت دریافت درد بعد از تزریق فرمالین بین گروه کنترل و گروه تغییر هم‌خانه در موش‌های ماده را نشان می‌دهد، به طوریکه یک منحنی بای‌فازیک از رفتارهای حاصل از تزریق فرمالین در گروه کنترل و گروه تغییرهم‌خانه مشاهده می‌شود و فقط در بلاک ۲ و ۳ بین این دو گروه تفاوت وجود دارد. نتایج برحسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) نشان داده شده‌است (n=۸ برای هر گروه)، *: معیار معنی‌دار بودن تقاوت گروه‌های تحت استرس با P ‹۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

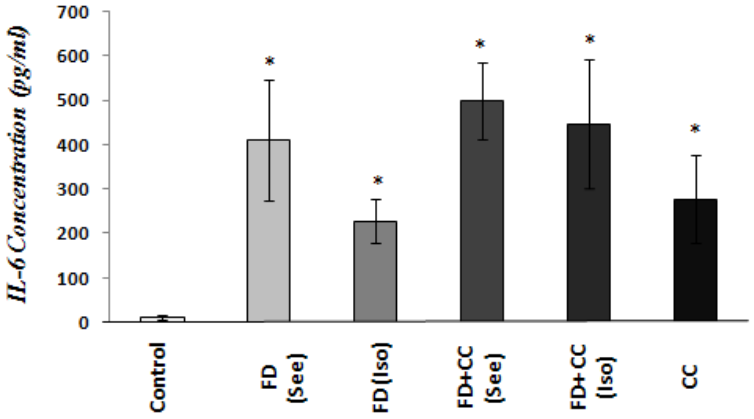


شکل ۳ – تفاوت دریافت درد بعد از تزریق فرمالین بین گروه کنترل و گروه‌های تحت استرس در فازهای مختلف پاسخ درد. در این نمودار میانگین نمرات داده شده در دقایق ۱ تا ۶ به عنوان فاز حاد، میانگین نمرات داده شده در دقایق ۷ تا ۱۰ به عنوان اینترفاز و میانگین نمرات داده شده در دقایق ۱۵ تا ۳۵ بعد از تزریق فرمالین به عنوان فاز مزمن در نظر گرفته شده است. این نمودار نشان می‌دهد اعمال استرس‌های محرومیت و نابرابری غذایی با یا بدون تجربه استرس تغییرهم‌خانه در گروه‌های مورد مطالعه بجز گروه ۶، سبب کاهش معنی‌دار دریافت درد در فاز مزمن پاسخ به فرمالین نسبت به گروه کنترل موش‌های ماده شده است (P‹۰/۰۰۱)، در حالیکه در فاز حاد بین تمام این گروه‌های تحت استرس وگروه کنترل تفاوتی وجود ندارد؛ به علاوه اعمال این استرس‌ها سبب شده است که در اینترفاز اختلاف معنی‌دار آماری بین گروه‌های ۲ تا ۶ با گروه کنترل وجود داشته باشد (P ‹۰/۰۵). نتایج برحسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) نشان داده شده‌است (n=۸ برای هر گروه). *: معیار معنی‌دار بودن تقاوت گروه‌های تحت استرس با P‹۰/۰۵ در فاز مزمن نسبت به گروه کنترل می‌باشد. # : معیار معنی‌دار بودن تقاوت گروه‌های تحت استرس با P ‹۰/۰۵ در اینترفاز نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

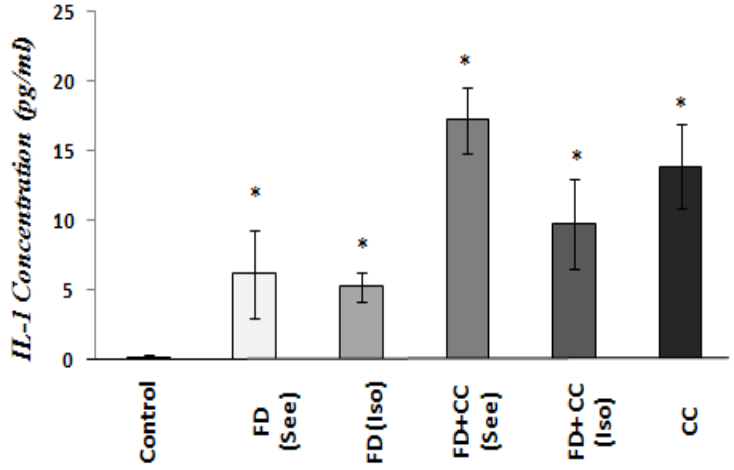
FD (See) = Food Deprived and inequality experienced group, FD (Iso) = Food Deprived group without inequitable situation, FD+CC (See) = Food Deprived group which also experienced inequality and cage-mate change simultaneously, FD+CC (Iso) = Food Deprived and cage-mate change experienced group without inequitable situation.

است که در اینترفاز اختلاف معنی‌دار آماری بین این گروه‌ها و گروه کنترل وجود داشته باشد (P‹۰/۰۵) و می‌توان نتیجه گرفت که طی اینترفاز، در گروه‌های تحت استرس در مقایسه با گروه کنترل میزان درد چندان تخفیف نیافته است.

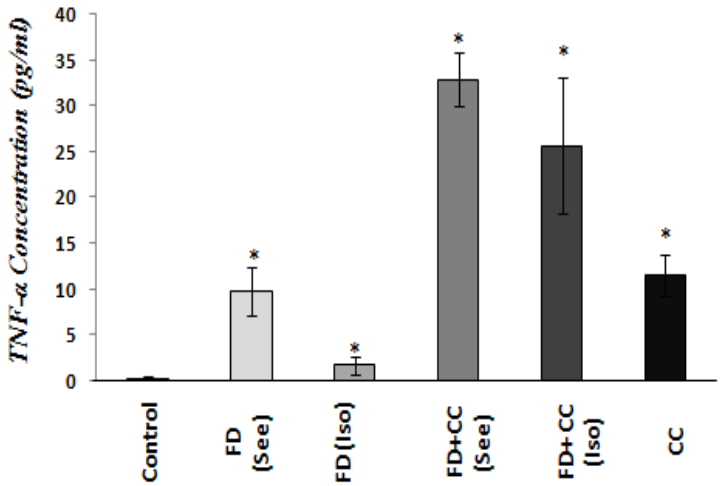
www.SID.ir



شکل ٤- تفاوت غلظت اینترلوکین ۶ بین گروه کنترل و گروه‌های تحت استرس. این نمودار نشان می‌دهد که در سرم تمام موش‌های ماده تحت استرس محرومیت و نابرابری غذایی و تغییرهم‌خانه در مقایسه با گروه کنترل غلظت اینترلوکین ۶ افزایش یافته است. نتایج برحسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) نشان داده شده است (n=۶-۸ در گروه‌های مورد مطالعه). *: معیار معنی‌دار بودن تفاوت گروه‌های تحت استرس با P ‹۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

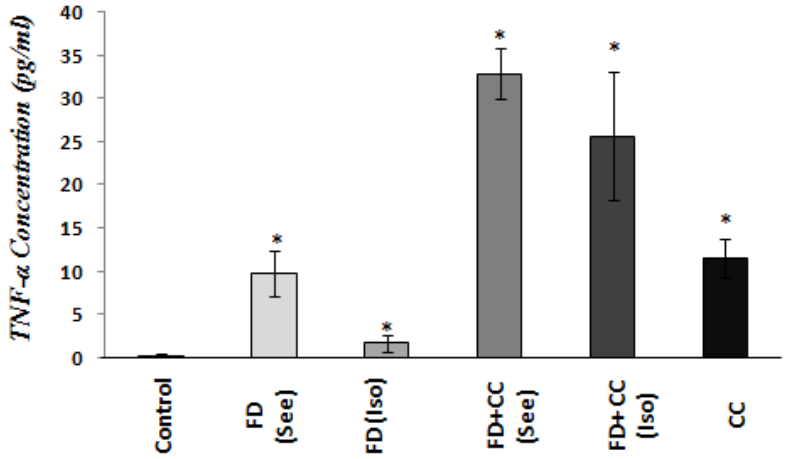


شکل ٥- تفاوت غلظت اینترلوکین ۱ بین گروه کنترل و گروه‌های تحت استرس. این نمودار نشان می‌دهد که در سرم تمام موش‌های ماده تحت استرس محرومیت و نابرابری غذایی و تغییرهم‌خانه در مقایسه با گروه کنترل غلظت اینترلوکین ۱ افزایش یافته است. نتایج برحسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) نشان داده شده است (n=۶-۸ در گروه‌های مورد مطالعه). *: معیار معنی‌دار بودن تفاوت گروه‌های تحت استرس با P ‹۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

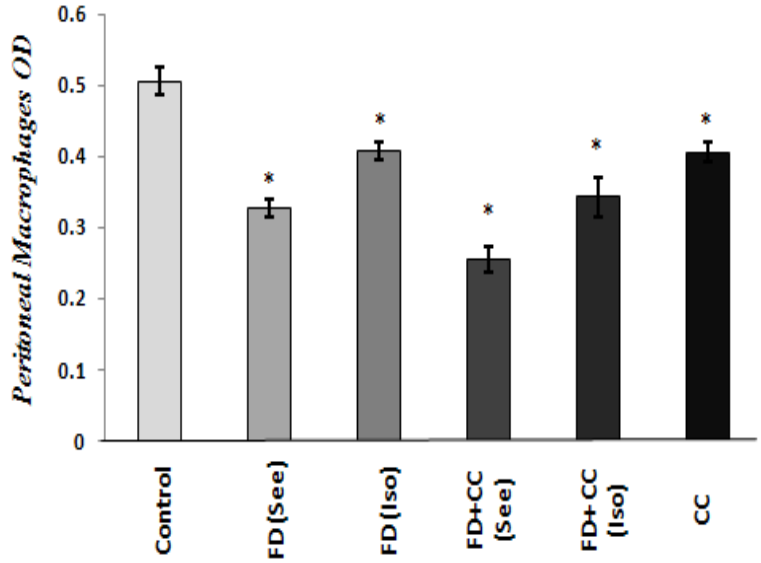


شکل ٦- تفاوت غلظت TNF-α بین گروه کنترل و گروه‌های تحت استرس. این نمودار نشان می‌دهد که در سرم تمام موش‌های ماده تحت استرس محرومیت و نابرابری غذایی و تغییر هم‌خانه در مقایسه با گروه کنترل غلظت TNF-α افزایش یافته است. نتایج برحسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) نشان داده شده است (n=۶-۸ در گروه‌های مورد مطالعه). *: معیار معنی‌دار بودن تفاوت گروه‌های تحت استرس با P ‹۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

www.SID.ir



شکل ٦- تفاوت غلظت TNF-α بین گروه کنترل و گروه‌های تحت استرس. این نمودار نشان می‌دهد که در سرم تمام موش‌های ماده تحت استرس محرومیت و نابرابری غذایی و تغییرهم‌خانه در مقایسه با گروه کنترل غلظت TNF-α افزایش یافته است. نتایج برحسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) نشان داده شده است (n=۶-۸ در گروه‌های مورد مطالعه). *: معیار معنی‌دار بودن تفاوت گروه‌های تحت استرس با P ‹۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.



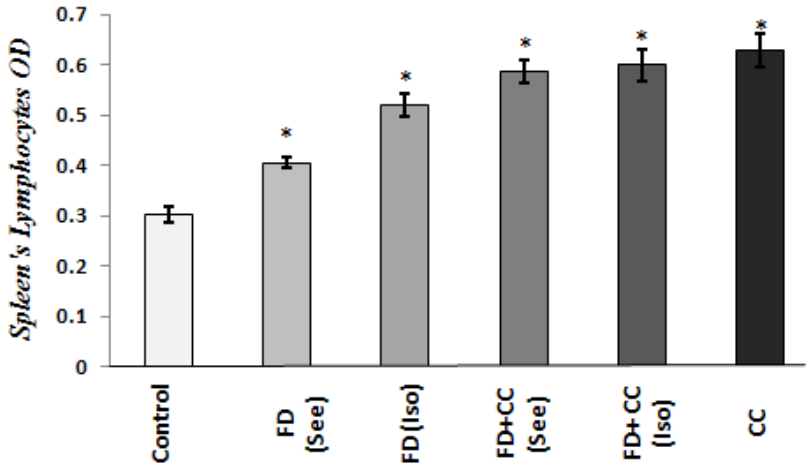
شکل ۷- بررسی مقایسه‌ای فعالیت حیاتی ماکروفاژهای صفاقی موش‌های ماده در حضور محرک LPS در گروه‌های مورد آزمایش. این نمودار نشان می‌دهد که میزان جذب نوری درگروه‌های تحت استرس به میزان قابل توجهی نسبت به گروه کنترل درشرایطی که از محرک LPS استفاده شده است، کمتر می‌باشد (P‹۰/۰۰۱). نتایج برحسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) نشان داده شده‌است (n=۴-۶ در گروه‌های مورد مطالعه). *: معیار معنی‌دار بودن تفاوت گروه‌های تحت استرس با P ‹۰/۵ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

با این حال استرس تغییر هم‌خانه در گروه ۶ بر درد مزمن و حاد بی‌تاثیر بوده است و در مقایسه با گروه کنترل میزان درد در طی اینترفاز تست فرمالین کاهش یافته است (P‹۰/۰۰۱).

مقایسه گروه‌های ۲، ۳، ۴ و ۵ با یکدیگر (شکل ۳) نشان داد که در فاز مزمن پاسخ به فرمالین، میزان درد درگروه محرومیت غذایی (ایزوله)، محرومیت غذایی به همراه تغییر هم‌خانه (مشاهده) و محرومیت غذایی به همراه تغییر هم‌خانه (ایزوله) با هم تفاوتی نداشته و تقریبا به یک میزان نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است، در حالی‌که میزان کاهش درد در گروهی که فقط محرومیت غذایی را در شرایطی تحمل می‌کرد که غذا خوردن دیگران را مشاهده می‌نمود، بیشتر از سه گروه ذکر شده می‌باشد (P‹۰/۰۵)؛ به علاوه در فاز مزمن پاسخ فرمالین میزان درد در تمام این گروه‌های تحت استرس نسبت به گروه تغییر هم‌خانه (شکل ۳)، به میزان چشمگیری کاهش یافته است (P‹۰/۰۵).

بررسی غلظت اینترلوکین ۱، اینترلوکین ۶ و TNF-α در سرم موش‌های ماده که با تکنیک الایزا صورت گرفت، نشان داد که در سرم تمام موش‌های ماده تحت استرس در مقایسه با گروه کنترل غلظت سیتوکاین‌های ذکر شده افزایش یافته است و تفاوت معنی‌دار آماری نسبت به گروه کنترل وجود دارد

www.SID.ir



شکل ۸- بررسی مقایسه‌ای فعالیت حیاتی لنفوسیتهای طحالی موش‌های نر و ماده در حضور محرک ConA در گروه‌های مورد آزمایش. این نمودار نشان می‌دهد که میزان جذب نوری درگروه‌های تحت استرس به میزان قابل توجهی نسبت به گروه کنترل درشرایطی که از محرک ConA استفاده شده است، بیشتر می‌باشد (P ‹۰/۰۰۱). نتایج برحسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) نشان داده شده‌است (n=۳-۶ در گروه‌های مورد مطالعه). *: معیار معنی‌دار بودن تفاوت گروه‌های تحت استرس با P ‹۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

(P‹۰/۰۵). به طوریکه بیشترین غلظت‌ها در گروهی که هر سه استرس را همزمان متحمل می‌شد، وجود داشت (شکل‌های ۴، ۵ و ۶). نتایج بدست آمده از جذب نوری حاصل از فعالیت حیاتی ماکروفاژهای صفاقی گروه کنترل در موش‌های ماده نشان می‌دهد که میانگین جذب نوری در ماکروفاژهای صفاقی گروه کنترل بدون محرک ۰/۳۴۷ و در گروه کنترل با محرک ۰/۵۰۶ می‌باشد و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (p‹۰/۰۰۱). در نتیجه محرک LPS بر تست MTT در گروه کنترل موش‌های ماده تاثیر داشته است.

مقایسه فعالیت حیاتی ماکروفاژهای صفاقی در گروه‌های تحت استرس با گروه کنترل (شکل ۷) نشان می‌دهد که میزان جذب نوری درگروه‌های تحت استرس به میزان قابل توجهی نسبت به گروه کنترل، کمتر می‌باشد (P‹۰/۰۰۱). به طوریکه کمترین میزان جذب نوری در گروه محرومیت غذایی به همراه تغییر هم‌خانه (مشاهده) و سپس در گروه محرومیت غذایی (مشاهده) می‌باشد (بین این دو گروه تفاوت آماری معنی‌دار با P=۰/۰۰۲ وجود دارد). مقایسه گروه‌های تحت استرس با یکدیگر در حضور محرک، بیان می‌کند که بین گروه ۳، ۵ و ۶ از نظر آماری تفاوتی وجود ندارد اما این ۳ گروه با میزان جذب نوری بیشتر نسبت به گروه ۲ و ۴ اختلاف آماری دارند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بدون حضور محرک ConA میانگین جذب نوری حاصل از فعالیت حیاتی لنفوسیت‌های طحالی در گروه کنترل از موش‌های ماده ۰/۱۹۵ بوده و در حضور محرک ConA این میانگین برابر با ۰/۳۰۴ می‌باشد و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (p‹۰/۰۰۱) و می‌توان نتیجه گرفت که محرک ConA بر تست MTT در گروه کنترل موش‌های ماده تاثیر داشته است.

مقایسه فعالیت حیاتی لنفوسیت‌های طحال در گروه‌های تحت استرس با گروه کنترل (شکل ۸) نشان می‌دهد که میزان جذب نوری درگروه‌های تحت استرس به میزان قابل توجهی نسبت به گروه کنترل، بیشتر می‌باشد (P‹۰/۰۰۱). به طوریکه بیشترین میزان جذب نوری در گروه تغییرهم‌خانه و سپس در گروه محرومیت غذایی به همراه تغییر هم‌خانه (ایزوله) می‌باشد (بین این دو گروه تفاوت آماری معنی‌دار وجود ندارد). مقایسه گروه‌های تحت استرس با یکدیگر در حضور محرک، بیان می‌کند که بین گروه ۳، ۴ و ۵ از نظر آماری تفاوتی وجود ندارد اما این ۳ گروه با میزان جذب نوری بیشتر نسبت به گروه ۲، اختلاف آماری معنادار دارند (P‹۰/۰۰۱).

بحث

اطلاعات کمی در مورد ارتباط بین محرومیت غذایی طولانی‌مدت و درد وجود دارد. مطالعه‌ای که توسط والتر و همکاران بر روی موش‌های نر صورت گرفت، نشان داد که محرومیت غذایی طولانی مدت بر روی فاز مزمن پاسخ درد به تزریق فرمالین ۵٪ اثر گذاشته و درد در این فاز به طور

Archive of SID
www.SID.ir

چشمگیری کاهش یافت [۵۸]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که محرومیت و نابرابری غذایی اثر مشخصی بر کاهش دریافت درد موش‌های ماده در فاز مزمن پاسخ به فرمالین دارد. در این مطالعه از مقایسه گروه‌های تحت استرس محرومیت و نابرابری غذایی و نیز تغییر هم‌خانه با گروه کنترل به این نتیجه رسیدیم که محرومیت و نابرابری غذایی و نه استرس تغییر هم‌خانه باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در دریافت درد در فاز مزمن پاسخ فرمالین در موش‌های ماده می‌شود؛ و این بیان می‌کند که استرس تغییرهم‌خانه که نشانگر ناپایداری در شرایط اجتماعی حیوان می‌باشد، چندان اثری بر پاسخ درد در فاز مزمن پاسخ به فرمالین ندارد. مطالعات نشان داده‌اند افرادی که برای مدت طولانی در معرض استرس باشند، میزان درد در آنها کمتر می‌باشد [۱۸، ۲۰، ۲۱، ۳۴]. بررسی‌هایی که در زمینه مواجهه-های اجتماعی صورت گرفته است، یک مدل از آنالژزی القا شده توسط استرس را اثبات می‌کند [۲۰]. بیچر[1] و همکاران مشاهده کردند سربازانی که در جنگ جهانی دوم دچار جراحت شده‌اند معمولا درد کمی دارند، درحالی‌که جراحات مشابه در شرایطی بدون استرس می‌تواند درد زیادی را ایجاد کند. این مشاهدات اولیه باعث شدند تا دریابیم که دریافت درد بسیار زیاد تحت تأثیر شرایط می‌تواند باشد [۱۸]. تحت شرایط خاص، پاسخ استرسی که محور HPA را فعال می‌کند، می‌تواند دارای اثرات مهاری بر روی درد باشد و این اثر به عنوان آنالژزی القا شده در اثر استرس (SIA)[2] شناخته می‌شود. به نظر می‌رسد که SIA توسط مکانیسم‌های مشخصی صورت می‌گیرد. یکی از این مکانیسم‌ها که در شرایط استرس نقش ایفا می‌کند، عملکرد سیستم اوپیوئیدی اندوژن می‌باشد [۲۱]. علی‌رغم وجود شواهدی مبنی بر نقش سیستم اوپیوئیدی اندوژن، بررسی‌های اولیه نشان می‌دهند که هر دو مکانیسم اوپیوئیدی و غیر-اوپیوئیدی در SIA نقش دارند و پیشرفت‌های چشمگیری در شناسایی این مکانیسم‌های غیراوپیوئیدی صورت گرفته‌است [۱۸]. اوپیوئیدها سبب کاهش تحریک پذیری رسپتورهای درد[3] و نیز کاهش آزاد شدن نوروپپتیدهای پیش‌التهابی تحریکی نظیر ماده P، پتپید وابسته به ژن کلسی‌تونین از پایانه ناسی-سپتورهای مرکزی و محیطی می‌شوند [۴۶]. در بعضی مطالعات بیان شده است زمانی‌که عامل استرس‌زا ضعیف و کوتاه مدت است، عملکرد سیستم اوپیوئیدی غالب می‌باشد، درحالی‌که اگر استرس شدید و یا طولانی‌مدت باشد، نقش سیستم غیراوپیوئیدی در ایجاد بی‌دردی بارزتر است [۳۴]. آنالژزی اوپیوئیدی از طریق فعال‌شدن رسپتورهای اوپیوئیدی توسط اوپیوئیدهای اندوژن و اگزوژن، هم در سیستم عصبی مرکزی و هم در محیط ایجاد می‌شود؛ چنین اثرات آنالژزیکی به خصوص در شرایط درد التهابی بروز می‌کند. گفته می‌شود که در مراحل اولیه التهاب، هر دو نوع رسپتورهای اوپیوئیدی مرکزی و محیطی در ایجاد اثرات بی‌دردی نقش دارند؛ در حالی‌که در مراحل بعدی التهاب، آنالژزی اندوژن توسط رسپتورهای اوپیوئیدی محیطی وساطت می‌شود [۴۶]. با در نظر گرفتن این نکته که درد فاز مزمن پاسخ به فرمالین یک درد التهابی است [۶۱]، می‌توان استنباط کرد که آنالژزی ایجاد شده در فاز مزمن تست فرمالین در اثر استرس‌های محرومیت و نابرابری غذایی، به دلیل فعال‌شدن رسپتورهای اوپیوئیدی محیطی و مرکزی می‌باشد. مطالعه بارنس و همکاران نشان داد که محرومیت غذایی سبب افزایش بیان ژنی رسپتورهای اوپیوئیدی درهسته ونترومدیال هیپوتالاموس و هسته قوسی می‌شود [۸] و این بیانگر نقش رسپتورهای اوپیوئیدی مرکزی در کاهش درد می‌باشد؛ مطالعه سونودا که نقش استرس‌های اجتماعی در کاهش حساسیت سلول‌های ایمنی به گلوکوکورتیکوئیدها و ایجاد التهاب شدید را بیان می‌کند [۵۲]، می‌تواند توجیه‌کننده نقش رسپتورهای اوپیوئیدی محیطی در کاهش درد باشد؛ به این ترتیب که التهاب بافت محیطی، منجر به افزایش سنتز و انتقال اکسونی رسپتورهای اوپیوئیدی در نورون‌های ریشه خلفی نخاع شده و در نتیجه افزایش این رسپتورها و جفت شدن با پروتئین G در پایانه عصب محیطی را به دنبال خواهد داشت. به‌علاوه، تعداد پایانه‌های رسپتورهای درد افزایش یافته و غلاف دور نورونی تخریب شده، به دنبال آن دسترسی آگونیست‌های اوپیوئیدی به این رسپتورها تسهیل خواهد شد. تمام این اثرات سبب ایجاد یک پاسخ آنالژزیک مناسب بوسیله اثر اوپیوئیدها بر رسپتورهای اوپیوئیدی‌شان در طی التهاب می‌شود [۴۶]؛ بر این اساس احتمالا افزایش سیتوکاین‌های پیش التهابی در

1. Beecher
2. Stress-induced Analgesia
3. nociceptors

www.SID.ir
Archive of SID

موش‌های تحت استرس در مطالعه حاضر در ایجاد هیپوآلژزی نقش داشته است، در این خصوص تصور بر این است که افزایش سطوح در گردش سیتوکاین‌های التهابی با افزایش مقاومت گلوکوکورتیکوئیدی مرتبط باشد. به عبارتی همانطور که گفته شد افزایش میزان گلوکوکورتیکوئیدها در یک چرخه فیدبکی منجر به کاهش تولید سیتوکاین‌های التهابی نظیر IL-6 می‌شود [۳۹]، در مطالعه ما اگر سطح در گردش کورتیکوستروئیدها در گروه‌های تحت استرس بالا رفته باشد، احتمالاً ایجاد مقاومت گلوکوکورتیکوئیدی مانع از اثرگذاری کورتیکوسترون در کاهش تولید این سیتوکاین‌ها شده است. مطالعه میگر[1] نیز نشان داد که استرس‌های اجتماعی طولانی مدت از طریق ایجاد مقاومت گلوکوکورتیکوئیدی منجر به افزایش تولید IL-6 می‌شود [۳۵]. استرس‌های اجتماعی نه تنها سبب افزایش فعالیت سیتوکاین‌های پیش التهابی می‌شوند، بلکه تنظیم چنین پاسخی را نیز تغییر می‌دهند. سطوح بالای کورتیزول به طور تیپیک سبب مهار تولید و بیان ژنی سایتوکاین‌های پیش التهابی می‌شود [۱۵]؛ اگرچه استرس‌های اجتماعی در انسان‌ها و حیوانات سبب افزایش گلوکوکورتیکوئیدها می‌شوند، انواع خاصی از استرس‌ها ممکن است با پروسه عملکرد مهاری گلوکوکورتیکوئیدها مغایرت داشته باشند و لذا منجر به افزایش همزمان گلوکوکورتیکوئیدها و سایتوکاین‌های پیش‌التهابی شوند [۴۹]. به عبارتی دیگر، استرسورهای اجتماعی می‌توانند توانایی گلوکوکورتیکوئیدها را در جلوگیری از ایجاد پاسخ‌های التهابی کاهش دهند، چنین پاسخی می‌تواند نتیجه کاهش رسپتورهای گلوکوکورتیکوئیدی در سلول‌های ایمنی تولیدکننده سایتوکاین‌های پیش‌التهابی باشد که منجر به افزایش این سایتوکاین‌ها خواهد شد [۶]. به علاوه، به نظر می‌رسد گلوکوکورتیکوئیدها در سیستم عصبی مرکزی به عنوان مدیاتورهای التهابی عمل کنند. بیان شده است که اثرات گلوکوکورتیکوئیدها در مغز متفاوت از اثر آنها در محیط است. در سیستم عصبی مرکزی بالا بودن طولانی‌مدت گلوکوکورتیکوئیدها می‌تواند اثرات پیش‌التهابی داشته باشد، در حالی‌که سطوح افزایش‌یافته ناچیز گلوکوکورتیکوئیدها اثرات ضد التهابی دارد و چنین پاسخی متفاوت از اثر آنها در محیط می‌باشد [۱۹]. و لذا در مطالعه حاضر احتمالا گلوکوکورتیکوئیدها هم در سیستم عصبی مرکزی و هم در محیط اثرگذار بوده‌اند و منجر به افزایش سیتوکاین‌های التهابی شده‌اند و این افزایش در ادامه با افزایش رسپتورها و آگونیست-های اوپیوییدی مرتبط می‌باشد. اثرات بالقوه وقایع استرس‌زا بر روی سیستم ایمنی به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است. با این وجود بسیاری از مطالعات بیشتر به استرس های فیزیکی پرداخته‌اند و در مورد استرس‌های اجتماعی کمتر صحبت شده است [۹]. عموما باور بر این است که استرس عملکرد سیستم ایمنی را سرکوب می‌کند و فرد را مستعد ابتلا به بیماری‌های مختلف می‌کند. با این وجود سرکوب وابسته به استرس عملکرد ایمنی همیشه اتفاق نمی‌افتد. به نظر می‌رسد زمانی‌که یک ارگانیسم در شرایط استرس قرار می‌گیرد، نیاز به یک پاسخ ایمنی قوی دارد و این متناقض با این مطلب است که در این شرایط عملکرد سیستم ایمنی سرکوب می‌شود. از طرفی دیگر، تصور بر این است که استرس سبب سرکوب ایمنی و افزایش استعداد ابتلا به عفونت‌ها و سرطان می‌شود و بیماری‌های التهابی نظیر پسوریازیس، آسم و آرتریت را بدتر می‌کند. با در نظرگرفتن این تناقض‌ها و بر اساس مطالعات اولیه در زمینه اثرات استرس و ریتم شبانه‌روزی کورتیکوسترون بر الگوهای مهاجرت و لانه‌گزینی[2] لوکوسیت‌ها، فرض بر این است که استرس می‌تواند اثرات دوجانبه‌ای بر عملکرد سیستم ایمنی داشته باشد؛ بر این اساس، در بعضی شرایط استرس سبب افزایش و در بعضی دیگر سبب سرکوب عملکرد ایمنی می‌شود. در مطالعه فردوس[3] مشخص شد که استرس حاد منجر به کاهش نسبی سلول‌های B و T و نیز سلول‌های کشنده طبیعی و مونوسیت‌ها در خون و طحال می‌شود. در مقابل، استرس مزمن میزان سلول‌های T را در گره‌های لنفاوی براکیال و نیز سلول‌های T و B، کشنده طبیعی و مونوسیت‌ها را در مغز استخوان افزایش داد [۱۷]. با درنظرگرفتن الگوهای مهاجرت و لانه‌گزینی لوکوسیت‌ها به طحال، بایستی یادآور شد که بر عکس استرس حاد، استرس مزمن و یا درمان گلوکوکورتیکوئیدی سبب افزایش تجمع لوکوسیت‌ها در طحال

1. Meagher

2. Trafficking
3. Firdauss

Archive of SID
www.SID.ir

می‌شود، طحال با داشتن مقادیر زیادی از گلوبولین متصل شونده به کورتیکوستروئید (CBG)[1]، نقش مهمی در بافرکردن لوکوسیت‌ها از سطوح بالای هورمون‌های استرسی دارد. مکانیسم‌های مختلفی که در افزایش عملکرد ایمنی تحت شرایط استرس می‌توانند دخیل باشند چندان شناخته شده نیست، همانطور که مکانیسم‌های مرتبط با سرکوب ایمنی در اثر استرس‌های مزمن چندان شناخته نشده است [۱۷]. علی‌رغم سازش پذیری پاسخ استرسی، استرس مزمن می‌تواند پاتوژنیک باشد. باور بر این است که استرس مزمن منجر به تخلیه آدرنال از اپی‌نفرین و گلوکوکورتیکوئیدها می‌شود. بر این اساس تحریک سیستم ایمنی در پاسخ به استرس در مدت کمی منجر به سرکوب ایمنی و مقاومت کم نسبت به بیماری‌ها می‌شود. مطالعه اولیه‌ای که بر ارتباط استرس و سیستم ایمنی تاکید می‌کرد توسط هانسلی مطرح شد و بیان می‌کرد که استرس مزمن سرکوب ایمنی به خصوص ایمنی ذاتی را به دنبال دارد [۴۸]. اثرات استرس‌های مزمن اجتماعی بر روی موش‌های صحرایی در مطالعه کلین[2] مورد بررسی قرار گرفت، در این مطالعه مشخص شد که علی‌رغم بزرگ شدن اندازه غده آدرنال و افزایش سطوح پایه کورتیکوسترون، فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی و پاسخ لنفوسیت‌ها به میتوژن تغییری نکرد و این نشان داد که ضرورتاً سطوح افزایش یافته کورتیکوسترون در اثر استرس‌های اجتماعی، عملکرد سیستم ایمنی را دچار نقص نمی‌کند [۳۱]. با این وجود در یکسری از مطالعات اثبات شده است که استرس‌های اجتماعی سبب اسپلنومگالی شده و فنوتیپ و عملکرد سلول‌های ایمنی حاصل از طحال را تغییر می‌دهد، به طوریکه این استرس سبب افزایش تعداد سلول‌های +CD11B در طحال شده و به طور عملکردی مقاومت گلوکوکورتیکوئیدی را در سلول‌های تک هسته‌ای به دنبال داشته است. به علاوه، اسپلنوسیت‌ها سطوح بالایی از سیتوکاین‌های پیش التهابی نظیر IL-6 و TNF-α را در حضور LPS ترشح کردند [۴]. و همانطور که قبلا اشاره شد، در مطالعه ما در اثر اعمال استرس‌های اجتماعی محرومیت، نابرابری غذایی و تغییر هم‌خانه میزان فعالیت حیاتی لنفوسیت‌های طحال نسبت به گروه کنترل از موش‌های ماده در پاسخ به میتوژن ConA بیشتر بود؛ به علاوه، میزان سیتوکاین‌های پیش‌التهابی در سرم گروه‌های تحت استرس از موش‌های نر و ماده بیشتر از گروه کنترل بود. نشان داده شده است که استرس‌های شدید عملکرد ضد التهابی هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی را دچار نقص می‌کنند. مطالعات گذشته نشان می‌دهد که استرس‌های اجتماعی مکرر و طولانی‌مدت سبب کاهش حساسیت گلوکوکورتیکوئیدی سلول‌های ایمنی و افزایش التهاب می‌شود [۲۷]. برای مثال، اسپلنوسیت‌های موش‌هایی که مکرراً با یک عامل استرس‌زا مواجه شده بودند، فعالیت حیاتی بیشتری را در حضور کورتیکوسترون نشان دادند. به علاوه، میزان تولید سیتوکاین‌های پیش التهابی حاصل از کشت سلولی لنفوسیت‌های این موش‌ها بیشتر از گروه‌های کنترل بود [۵۴]. کاهش پاسخ گلوکورتیکوئیدی طحال تنها در حضور محرک میتوژن دیده شد، در حالیکه سلول‌هایی که با محرک تحریک نشده بودند. تفاوتی با گروه کنترل نداشتند [۴۳]. مطالعاتی که از استرس‌های اجتماعی استفاده کرده‌اند، نشان دادند که اثر این استرسورها بر روی تعداد لنفوسیت‌ها در موش‌های سوری و صحرایی به الگوهای مهاجرت و لانه‌گزینی تغییریافته لوکوسیت‌ها در ارگان‌های لنفوئیدی و پوست بستگی دارد [۵۴]. بر این اساس به نظر می‌رسد که احتمالاً اعمال استرس‌های اجتماعی فوق‌الذکر میزان فعالیت حیاتی لنفوسیت-های طحال را از طریق ایجاد مقاومت گلوکورتیکوئیدی در لنفوسیت‌های طحال بالا برده است [۳۵]. به طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که قرار گرفتن درمعرض شرایط اجتماعی فقر واحساس نابرابری و نه تغییرهم‌خانه منجر به ایجاد بی‌دردی القا شده در اثر استرس مزمن می‌شود؛ درعین حال تمام استرس-های اعمال شده منجر به کاهش فعالیت حیاتی ماکروفاژهای صفاق و افزایش فعالیت حیاتی لنفوسیت‌های طحال بعلاوه ایجاد طرح پیش التهابی استرس گردید.

سپاسگزاری

این پژوهش با پشتیبانی مالی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد انجام گرفته است که بدین وسیله از حمایت و همکاری مسوولان محترم آن مرکز تشکر و قدردانی می‌گردد.

1. Corticosteroid Binding Globulin
2. Klein

Archive of SID
www.SID.ir

References

[1] Andre J, Zeau B, Pohl M, Cesselin F, Benoliel JJ, Becker C, Involvement of cholecystokininergic systems in anxiety-induced hyperalgesia in male rats: behavioral and biochemical studies. ***J Neurosci*** 25 (2005) 7896-7904.

[2] Arregi A, Azpiroz A, Fano E, Garmendia L, Aggressive behavior: Implications of dominance and subordination for the study of mental disorders. ***Aggression and Violent Behavior*** 11 (2006) 394-413.

[3] Ashley PJ, Ringrose S, Edwards KL, Wallington E, McCrohan CR, Sneddon LU, Effect of noxious stimulation upon antipredator responses and dominance status in rainbow trout. ***Anim Behav*** 77 (2009) 403-410.

[4] Avitsur R, Padgett DA, Dhabhar FS, Stark JL, Kramer KA, Engler H. Expression of glucocorticoid resistance following social stress requires a second signal. ***J Leukocyte Biol*** 74 (2003) 507–513.

[5] Avitsur R, Kavelaars A, Heijnen C, Sheridan JF, Social stress and the regulation of TNF-α secretion. ***Brain Behav Immun*** 19 (2005) 311-317.

[6] Avitsur R, Padgett DA, Sheridan J, Social interactions, stress and immunity. ***Neurol Clin*** 24 (2006) 483–491.

[7] Azpiroz A, Garmendia L, Fano E, Sanchez-Martin JR, Relations between aggressive behavior, immune activity, and disease susceptibility. ***Aggression and Violent Behavior*** 8 (2003) 433-453.

[8] Barnes MJ, Primeaux SD, Bray GA, Food deprivation increases the mRNA expression of μ-opioid receptors in the ventral medial hypothalamus and arcuate nucleus. ***Am J Physiol- Reg I*** 295 (2008) 1385-1390.

[9] Bartolomucci A, Palanza P, Gaspani L, Limiroli E, Panerai AE, Ceresini G, Poli MD, Parmigiani S, Social status in mice: behavioral, endocrine & immune changes are context dependent. ***Physiol Behav***7 (2001) 401-410.

[10] Biondi M, Effects of stress on immune functions: an overview. ***Psychoneuroimmunology*** 2 (2001) 189-226.

[11] Brekke M, Hjortdahl P, KvienTK. Severity of musculoskeletal pain: relations to socioeconomic inequality. ***Soc Sci Med*** 54 (2002) 221-228.

[12] Checkley S, The neuroendocrinology of depression and chronic stress. ***Brit Med Bull*** 52 (1996) 597-617.

[13] Davey S, Hart G, Blane C, Hole D, Adverse socioeconomic conditions in childhood and cause-specific adult mortality: prospective longitudinal study. ***BMJ*** 316 (1998) 1631-1635.

[14] Davies KA, Silman AJ, Macfarlane GJ, Nicholl BI, Dickens C, Morriss R, Ray D, McBeth J, The association between neighbourhood socio-economic status and the onset of chronic widespread pain: results from the EPIFUND study. ***Eur J Pain*** 13 (2009) 635-640.

[15] Dickerson SS, Gable Sh, Irwin M, Aziz N, Margaret E, Kemeny M. Social-Evaluative Threat and Proinflammatory Cytokine Regulation: An Experimental Laboratory Investigation. ***Psychol Sci*** 20 (2009) 1237–1244.

[16] Fernald L, Adler N, Blood pressure and socioeconomic status in low- income women in Mexico. ***J Epidemiol Commun H*** 62 (2008) 785-790.

[17] Firdauss SD. ***Stress-induced enhancement of cell-mediated immunity*** [dissertation]. New York: .Rockfeller Univ., 1997.

[18] Ford KG, Finn DP, ***Clinical correlates of Stress-induced Analgesia: Evidence from pharmacological studies*** [dissertation]. Ireland, Galway: .Road Univ., 2008.

[19] Garcı´a-Bueno B, Caso J.R, Leza JC. Stress as a neuroinflammatory condition in brain: Damaging and protective Mechanisms (review). ***Neurosci Biobehav R*** 32 (2008) 1136–1151.

[20] Giosa L, Chiarotti F, Alleva E, Laviola G, A Trouble shared is a trouble halved: Social context and status affect pain in mouse dyads. ***Plos One*** 4 (2009) e4143.

[21] Gomes A, ***Alterations in Hippocampal Neurogenesis and Pain Behavior in Mice: an Experimental Study*** [dissertation]. Ave.370 Lancaster: .Haverford College Psychology Dep., 2009.

[22] Hargraves WA, Hentall ID, Analgesic effects of dietary caloric restriction in adult mice. ***Pain*** 114 (2005) 455-461.

[23] Heidary F, ***Study of food inequality and unstable social status effects on hystopathological changes of myocardial cells in male rabbits*** [dissertation]. Iran, Tehran: .Shahed Univ., 2006.

[24] Heidary F, Mahdavi MRV, Momeni F, Minaii B, Rogani M, Fallah N, Heidary R, Gharebaghi R, Food inequality negatively impacts cardiac health in rabbits. ***PloS One*** 3 (2008) e3705.

Archive of SID
www.SID.ir

[25] Hoff J, Technique Methods of Blood Collection in the Mouse. ***Lab Animal -NEW YORK-*** *29 (*2000) 47-54.

[26] Inaba R, Mirbod SM, Sugiura H, Effect of Maharashi Amrit Kalash 5 as an Ayurvedic herbal food supplement on immune function in aged mice. ***BMC Complemen Altern M*** 5 (2005) 8.

[27] Johnson RR, Storts R, Welsh TH, Welsh CJ, Meagher MW, Social stress alters the severity of acute Theiler's virus infection. ***J Neuroimmunol*** 148 (2004) 74–85.

[28] Jordan KP, Thomas E, Peat G, Wilkie R, Croft P, Social risks for disabling pain in older people: A prospective study of individual and area characteristics. ***Pain*** 137 (2008) 652-661.

[29] Keeling LJ, Gonyou HW, ***Social behaviour in farm animals.*** UK (Wallingford): CABI, 2001.

[30] Kiecolt-Glaser JK, Preacher KJ, MacCallum RC, Atkinson C, Malarkey WB, Glaser R, Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6. ***P Natl Acad Sci*** 100 (2003) 9090–9095.

[31] Klein F, Lemaire V, Sandi C, Vitiello S, Van der Logt J, Laurent PE, Neveu P, Le Moal M, Mormede P, Prolonged increase of corticosterone secretion by chronic social stress does not necessarily impair immune functions. ***Life Sci*** 50 (1992) 723-731.

[32] Kristensona M, Eriksen HR, Sluiterc JK, Starked D, Ursin H, Psychobiological mechanisms of socioeconomic differences in health. ***Soc Sci Med*** 58 (2004) 1511-1522.

[33] McCracken JA, Custer EE, Lamsa JC. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. ***Physiol Rev*** 79 (1999) 263-323.

[34] McEwen BS, Kalia M, The role of corticosteroids and stress in chronic pain conditions. ***Metabolism*** 59 (2010) Suppl 1: S9–S15.

[35] Meagher MW, Welch CR. Cytokines Mediate the Adverse Effects of Social Stress in an Animal Model of Multiple Sclerosis. ***Psychol Sci*** 22 (2008) 1-5.

[36] Merlot E, Moze E, Dantzer R, Neveu P, Importance of fighting in the immune effects of social defeat. ***Physiol Behav*** 80 (2003) 351-357.

[37] Mojarab S, Mahdavi MRV, Roghani M, Safarpour AR, Tiraihi T, Faghihzadeh S, Azathy MH, Nasabi NA, Effect of food inequality and unstable social status on myocardial cells of male rabbits. ***World Appl Sci J*** 8 (2010) 680-686.

[38] Nguyen K, Terrence D, Owens S, Kohno T, Fleshner M, Watkins L, Exposure to acute stress induces brain interleukin-1β protein in the rat. ***J Neurosci*** 18 (1998) 2239–2246.

[39] O'Connor TM, O'Hallorn DJ, Shanahan F. The stress response and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: from molecule to melancholia. ***QJM*** 93 (2000) 323-333.

[40] Office of the Deputy for social affairs management and planning organization of Iran (MPO). ***The First Millennium Development Goals Report Islamic Republic of Iran*** 2004 Nov, Tehran, Iran.

[41] Pantazis C, Gordon D, Levitas R, ***Poverty and social exclusion in Britain: The millennium survey.*** Great Britain: Policy Press, 2006.

[42] Potter M, History of the BALB/c family. In: The BALB/c Mouse: Genetics and Immunology, ***Curr Top Microbiol*** 122 (1985) 1-5.

[43] Quan N, Avitsur R, Stark JL, He L, Shah M, Caligiuri M, Padgett DA, Marucha PT, Sheridan JF, Social stress increases the susceptibility to endotoxic shock. ***J Neuroimmunol*** 115 (2001) 36–45.

[44] Rabin BS, ***Stress, immune function, and health: The connection.*** New York: Wiley-Liss, 1999.

[45] Rajabi M, ***The effect of MS14, a herbal-marine compound, on peritoneal macrophages activity in mice*** [dissertation]. Iran, Tehran: .Shahed Univ., 2008.

[46] Rittner HL, Machelska H, SteinC, Leukocytes in the regulation of pain and analgesia. ***J Leukocyte Biol*** 78 (2005) 1215-1222.

[47] Santiago CDC, Wadsworth ME, Stump J, Socioeconomic status, neighborhood disadvantage, and poverty-related stress: Prospective effects on psychological syndromes among diverse low-income families. ***J Econ Psychol*** 32 (2011) 218-230.

[48] Sapolsky RM, Social status and health in humans and other animals. ***Annu Rev Anthropol*** 33 (2004) 393–418.

[49] Sapolsky RM, The influence of social hierarchy on primate health. ***Science*** 308 (2005) 648–652.

[50] Sarikhani F. ***Poverty, health and development***. Tehran: Pejvak Keyvan, 2005: 67-73.

[51] Seeman T, Epel E, Gruenewald T, Karlamangla A, McEwen BS, Socio-economic differentials in peripheral biology: Cumulative allostatic load. ***Ann NY Acad Sci*** 1186 (2010) 223-239.

[52] Sonoda J, Chida Y, Sudo N, Kubo C, Social disruption

Archive of SID
www.SID.ir

stress exacerbates alpha-galactosylceramide- induced hepatitis in mice. ***Neuroimmunomodulat*** 175 (2005) 8200-8208.

[53] Stefanski V, Engler H, Effects of acute and chronic social stress on blood cellular immunity in rats. ***Physiol Behav*** 64 (1998) 733-741.

[54] Stefanski V, Grüner S, Gender difference in basal and stress levels of peripheral blood leukocytes in laboratory rats. ***Brain, Behav Immun*** 20 (2006) 369–377.

[55] Sufka KJ, Watson GS, Nothdurft RE, Mogil JS, Scoring the mouse formalin test: validation Study. ***Pain*** 2 (1998) 351-358.

[56] Tabibi SJ, Construction of management in Iran's health system from the viewpoint of equity. ***Tamin Ejtemaei*** 28 (2008) 81-106.

[57] Tournemaine F, Tsoukis C, Gain versus pain from status and ambition: Effects on growth and inequality. ***Journal of Socio-Economics*** *39* (2010) 286-294.

[58] Walter AH, Hentall ID, Anaslgesic effects of dietary caloric restriction in adult mice. ***Pain*** 114 (2005) 455-461.

[59] Wilkinson RG, Health inequalities: relative or absolute material standards. ***BMJ*** *314* (*1997*) *591*–595.

[60] Wolf G, Yirmiya R, Kreisel T, Goshen I, Weidenfeld J, Poole S, Shavit Y, Interleukin-1 signaling modulates stress-induced analgesia. ***Brain Behav Immun*** 21(2007) 652-659.

[61] Xiangqi Li, Sahbaei P, Zheng M, Ritchie J, Peltz G, Mogil JS, Clark JD, Expression genetics identifies spinal mechanisms supporting formalin late phase behaviors. ***Pain*** 6 (2010) 11.

[62] Zhao Ch, Tao Y, Tall JM, Donovan D, Meyer R, Raja S, Role of μ-opioid receptors in formalin-induced pain behavior in mice. ***Exp Neurol*** 184 (2003) 839-845.

[63] Zimmermann M, Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. ***Pain*** 16 (1983) 109–110.

Archive of SID

www.SID.ir