



Effects of dominant/subordinate social status on pain behavior and proinflammatory cytokines in the serum of mice

Marjan Aghajani^{1,2,3}, Mohammad Reza Vaez Mahdavi^{1,2,3*}, Tooba Ghazanfari^{4,5}, Mohsen Khalili^{6,3}, Armin Azimi^{1,3}, Saeid Arbab Soleymani^{1,3}

1. Traditional Medicine Clinical Trial Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.

2. Health Equity Research Group, Shahed University, Tehran, Iran

3. Dept. of Physiology, Shahed University, Tehran, Iran

4. Immunoregulation Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

5. Dept. of Immunology, Shahed University, Tehran, Iran

6. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

Received: 28 Jul 2012

Accepted: 26 Oct 2012

Abstract

Introduction: The current investigations on Health Equity, primarily point to the harmful health consequences of being in a stressful social hierarchy. The repetitive nature of social conflicts seems to favor the induction of hyperalgesia or hypoalgesia both in rodents and humans, and it can also affect the immune system. In this study, the effects of changes in social status on pain perception as well as alterations of pro-inflammatory cytokines were investigated in Balb/C mice.

Methods: By implementation of a sensory contact model in 22 male inbred mice (stress group) from 30 mice of the Balb/c strain and modeling of dominance/submissive relationship, each mouse was injected by 20 μ l of formalin 2% and their pain behavior was scored, then serum concentrations of proinflammatory cytokines were measured in all mice.

Results: Our results showed that subordinate mice in chronic phase of formalin test were hypoalgesic as compared to the control and dominant mice ($P < 0.05$). On the other hand, dominant mice were hypoalgesic as regards to subordinate mice during acute phase of formalin test. IL-1 and IL-6 concentrations in serum of dominant and subordinate mice were well above the control group.

Conclusion: These results revealed that despite similar increase of proinflammatory cytokines' level in dominant and subordinate subjects; social status can differently affect pain perception.

Key words: Dominant/Subordinate relationship, Formalin Test, Stress-induced Analgesia, Stress-induced Hyperalgesia, Proinflammatory cytokines, Mice, Health Equity

* Corresponding author e-mail: vaezmahdavi@shaded.ac.ir
mh_mahdavi@yahoo.com

Available online at: www.phypha.ir/ppj

اثرات موقعیت اجتماعی غالب/مغلوب بر پاسخ درد و تغییرات سرمی سیتوکاین‌های پیش‌التهابی در موش‌های آزمایشگاهی

مرجان آقاجانی^{۱،۲،۳}، محمدرضا واعظ مهدوی^{۱،۲،۳*}، طوبی غضنفری^{۴،۵}، محسن خلیلی^{۶،۳}، آرمین عظیمی^{۱،۳}، سعید ارباب سلیمانی^{۱،۳}

۱. مرکز تحقیقات کارآزمایی بالینی طب سنتی، دانشگاه شاهد، تهران
۲. گروه پژوهشی عدالت در سلامت، دانشگاه شاهد، تهران
۳. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران
۴. مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی، دانشگاه شاهد، تهران
۵. گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران
۶. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران

پذیرش: ۵ آبان ۹۱

دریافت: ۷ مرداد ۹۱

چکیده

مقدمه: تحقیقات اخیر در زمینه عدالت در سلامت بر اثرات شرایط اجتماعی پراسترس در سطح سلامت تاکید می‌کنند. بنظر می‌رسد ماهیت استرس زای مواجهه‌های اجتماعی سبب ایجاد پردردی و بی‌دردی در انسان‌ها و جوندگان شود، و نیز می‌تواند پاسخ ایمنی را تحت تاثیر قرار دهد. در مطالعه حاضر اثرات تفاوت در موقعیت اجتماعی بر دریافت درد و تغییرات غلظت سیتوکاین‌های پیش‌التهابی در موش‌های Balb/C با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: با اعمال مدل تماس حسی در ۲۲ موش نر Balb/C (به عنوان گروه تجربه کننده استرس) از ۳۰ سر موش (با احتساب گروه کنترل) و شکل‌گیری رابطه غالب-مغلوب، به هر موش ۲۰ میکرولیتر از فرمالین ۲٪ تزریق شد و رفتارهای درد آنها نمره‌دهی شد و سپس غلظت سیتوکاین‌های پیش‌التهابی (IL-1، IL-6) در سرم تمامی موش‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج مطالعه ما نشان داد که موش‌های مغلوب در مقایسه با موش‌های گروه کنترل و غالب در فاز مزمن از تست فرمالین درد کمتری را احساس نموده‌اند و هیپوالژزیک بودند ($P < 0.05$). از طرفی دیگر، در فاز حاد تست فرمالین موش‌های غالب در مقایسه با موش‌های مغلوب درد کمتری را احساس نمودند. غلظت سرمی سیتوکاین‌های اینترلوکین ۱ و اینترلوکین ۶ در موش‌های غالب و مغلوب بسیار بیشتر از موش‌های گروه کنترل بود.

نتیجه‌گیری: این نتایج نشان داد که علی‌رغم افزایش سطوح سیتوکاین‌های پیش‌التهابی در حیوانات غالب و مغلوب، موقعیت اجتماعی آنها بطور متفاوتی پاسخ درد را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: رابطه غالب/مغلوب، آزمایش فرمالین، بی‌دردی القا شده در اثر استرس، پر درد القا شده در اثر استرس، سیتوکاین‌های پیش‌التهابی، موش، عدالت در سلامت

مقدمه

که مواجهه مکرر با استرس‌ورهای اجتماعی، نتایج منفی بر سطح سلامت خواهد داشت. طبقه اجتماعی یک فرد اثرات زیادی بر میزان استرس او دارد [۲۷، ۵۳]. تغییرات موقعیت اجتماعی به میزان زیادی پاسخ عاطفی-رفتاری و فیزیولوژیک افراد را در گونه‌های مختلف تحت تاثیر قرار می‌دهد [۲۲]. سائپولسکی^۱ دریافت که در بابونه‌های متعلق به طبقه‌های اجتماعی بالا در مقایسه با بابونه‌های مغلوب، سطح پایینی از

تحقیقات اخیر در زمینه عدالت در سلامت، تاکید می‌کنند

* نویسنده مسئول مکاتبات:
vaezmahdavi@shahed.ac.ir
mh_mahdavi@yahoo.com
www.phypha.ir/ppj
1. Sapolsky

وبگاه مجله:

در مطالعه‌های بالینی و آزمایشگاهی، برخوردها و مواجهه‌های اجتماعی می‌تواند رفتار افراد و پاسخ‌شان به محرک‌های بیرونی را تحت تاثیر قرار دهد [۲۲]. از آنجا که در طی سالهای گذشته علاقه زیادی به مطالعه ارتباط بین درد و استرس‌های اجتماعی وجود داشته است، لذا بسیاری از محققان بر بررسی مکانیسم‌های درد در حیوانات در این راستا تمرکز نموده‌اند [۲]. در تعریفی که انجمن بین‌المللی مطالعه درد (IASP) در زمینه درد ارائه داده است، نه تنها فاکتورهای بیولوژیکی نظیر آسیب‌های بافتی منجر به بروز درد می‌شوند بلکه فاکتورهای محیطی و اجتماعی نیز در تجربه درد نقش دارند [۱۸]. مطالعه در زمینه استرس‌های مزمن اجتماعی بیان می‌کنند که این استرس‌ها بیشتر از بی‌دردی (هیپوآلژزی)، سبب پردردی (هیپراژزی) می‌شود [۲، ۳۴]؛ با این حال، در مدل‌های حیوانی درد نشان داده شده است که مواجهه با شرایط استرس‌زا و ترسناک می‌تواند پاسخ درد را کاهش داده و هیپوآلژزی به دنبال داشته باشد [۳، ۴].

از آنجا که رفتار غالب موش‌های نری که به صورت گروهی با یکدیگر هم‌خانه شده‌اند، شکل دادن قلمروهای اجتماعی مربوط به خود می‌باشد و از دست دادن این قلمروها منجر به بروز استرس می‌شود [۵۱]، هدف این مطالعه بررسی ارتباط موقعیت اجتماعی با درد حاد و مزمن، و تغییرات غلظت سیتوکاین‌های پیش التهابی در سرم موشهای آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، حیوان‌های مورد مطالعه ۳۰ سر موش نر Balb/c با محدوده سنی ۸ تا ۱۰ هفته بودند. حیوانات در شرایط یکسان رطوبت، دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و دوره تاریکی/روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. در ابتدا این موش‌ها به صورت گروهی، حداکثر دو موش در هر قفس طبقه‌بندی شدند و سپس به دو گروه تقسیم‌بندی شدند: گروه کنترل ($n=8$) و گروه تجربه‌کننده استرس ($n=22$). یک پاریشن سیمی، قفس تمامی موشها را به دو قسمت مساوی تقسیم می‌نمود، لذا هر موش به صورت جداگانه در قفس قرار می‌گرفت و قلمرو مربوط به خودش را داشت (در این مدل از قرارگیری حیوان‌ها، موشها از ارتباط جسمی و حمله کردن به

هم‌نمون‌های استرسی وجود دارد، علاوه بر اینکه در حیوان‌های مغلوب ضربان قلب و فشار خون بالا بوده و اثرات منفی بر سلامتی آنها خواهد داشت [۵۴]. گزارش شده است که در موش‌هایی که از نظر اجتماعی غالب شناخته می‌شوند، در آزمایش بررسی حافظه، میزان بروز اضطراب نسبت به موشهای مغلوب در آزمایش بررسی حافظه بیشتر است و این یافته بیان می‌کند که مواجهه با موقعیتی یکسان اثرات متفاوتی بر روی حیوان‌ها بر اساس طبقه اجتماعی آنها دارد [۵۳]. تمامی این مطالب نشانگر این است که سطح پایین اجتماعی - اقتصادی باعث فعال شدن مکانیسم‌های مرتبط با استرس در فرد می‌شود، به عنوان مثال اگر گروهی از افراد که از نظر سن، جنس و نژاد یکسان باشند، در نظر گرفته شوند و در این گروه نیاز به برآورد و پیش بینی در زمینه طول عمر آنها باشد، احتمالاً آن کسی طول عمرش کمتر است که سطح اجتماعی - اقتصادی پایین - تری داشته باشد [۵۳، ۵۴، ۵۵].

بعضی مطالعات تجربی و بالینی نشان داده‌اند که استرس‌های طبیعی و نیز استرس‌های القا شده در مطالعه‌های آزمایشگاهی، هر دو اثرات بسیار بارزی بر پاسخ ایمنی دارند [۹، ۱۱، ۴۵]. بر این اساس، افزایش بروز رفتارهای تهاجمی با افزایش تولید سیتوکاین‌ها و فعالیت سلول‌های ایمنی در مطالعه‌های حیوانی مرتبط بوده است [۴۳]. در بعضی مطالعه‌ها نشان داده شده است که سلول‌های طحال در حیوانات مغلوب، سطوح بالایی از سیتوکاین‌های پیش التهابی نظیر اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا را در حضور محرک LPS تولید می‌کنند [۷، ۸، ۵۶].

تجربه شرایط پر استرس می‌تواند مستقیماً افزایش سیتوکاین‌ها بخصوص اینترلوکین ۱ و اینترلوکین ۶ را دنبال داشته باشد [۳۰]. استرس همچنین می‌تواند بیماری‌های التهابی و خودایمنی، آسم و آلرژی را بدتر کند، اگرچه چنین بیماری‌هایی با سرکوب ایمنی بهبود می‌یابند. پاسخ استرسی جنگ و گریز که در شرایطی نظیر برخورد با یک رفتار تهاجمی بروز می‌کند، منجر به سرکوب ایمنی می‌شود. لذا این یافته‌ها بیان می‌کنند که بعضی شرایط استرسی برعکس بعضی دیگر، سبب سرکوب ایمنی می‌شوند [۱۵، ۱۶].

یکدیگر دور خواهند بود و فقط می‌توانند بوی یکدیگر را استشمام کرده و یکدیگر را ببینند و بشنوند. این ارتباط حسی از طریق پارتیشن سیمی به عنوان یک ارتباط اجتماعی غیر فعال در نظر گرفته می‌شود که عوارض ناشی از ایزوله‌شدن اجتماعی را کاهش می‌دهد [۴۷]. هر دو حیوان قرار گرفته در هر قفس دسترسی جداگانه و آزاد به آب و غذای استاندارد و کافی داشتند. بعد از گذشت دو هفته از عادت کردن موش‌ها به چنین شرایطی، در حالیکه موش‌های گروه کنترل همچنان در ارتباط حسی با یکدیگر بودند، موش‌های گروه تجربه کننده استرس در طی ۶ روز متوالی تحت تاثیر شرایط اجتماعی بی‌ثبات بر اساس پروتکل زیر تحت عنوان "مدل تماس جسمی تعدیل‌شده" قرار می‌گرفتند:

علی‌رغم اینکه بعضی مطالعات نشان داده‌اند که موش‌های نژاد Balb/c رفتارهای تهاجمی را کمتر نشان می‌دهند [۱۳، ۱۴، ۲۹، ۵۲]، بعضی دیگر نشان داده‌اند که موش‌های نر این نژاد رفتارهای تهاجمی را بروز داده و رابطه غالب-مغلوبی را زمانی که در کنار یکدیگر قرار بگیرند، نشان می‌دهند [۳۹، ۴۰]. لذا بر اساس اینکه رفتار نرمال موش‌های نر بروز رفتارهای تهاجمی برای دفاع از قلمروشان می‌باشد، ما از مدل تماس حسی که در آن دو موش نر برای یک مدت مشخص در تماس حسی با یکدیگر بوده و سپس هر روز برای مدت زمانی مشخص در تماس جسمی خواهند بودند تا رابطه غالب و مغلوبی شکل بگیرد، استفاده نمودیم.

همانطور که گفته شد، در این مدل استرسی یک پارتیشن سیمی تور مانند که قفس را به دو قسمت مساوی تقسیم کرده و امکان ارتباط حسی ۲ موش را فراهم می‌کرد، در قفس تعبیه شد. این پارتیشن به مدت ۱۴ روز ثابت بود و تنها موش‌ها ارتباط حسی داشته و ارتباط جسمی بین آنها برقرار نمی‌شد. بعد از ۱۴ روز ثابت بودن پارتیشن، این پارتیشن در طی ۶ روز متوالی، هر روز ۱۰ دقیقه از هر قفس برداشته شده و اجازه داده می‌شد که دو موش به هم حمله کنند و ارتباط جسمی بین آنها برقرار شود. چنانچه در طی سه روز متوالی یک موش به موش دیگر حمله می‌کرد آن موش غالب شناخته می‌شد و موش مغلوب موشی بود که در طی سه روز متوالی مورد حمله قرار می‌گرفت، در غیر این صورت آن قفس از مطالعه خارج شده و مورد بررسی قرار نمی‌گرفت [۲۲].

به این ترتیب در انتهای این ۶ روز، ۸ دیاد^۱ (۸ موش نر غالب و ۸ موش نر مغلوب) داشتیم و ۳ دیاد از این موش‌های گروه استرس از مطالعه خارج شدند، چرا که رابطه غالب-مغلوبی بین آنها شکل نگرفت.

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 نظر گرفته 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

1. Diad

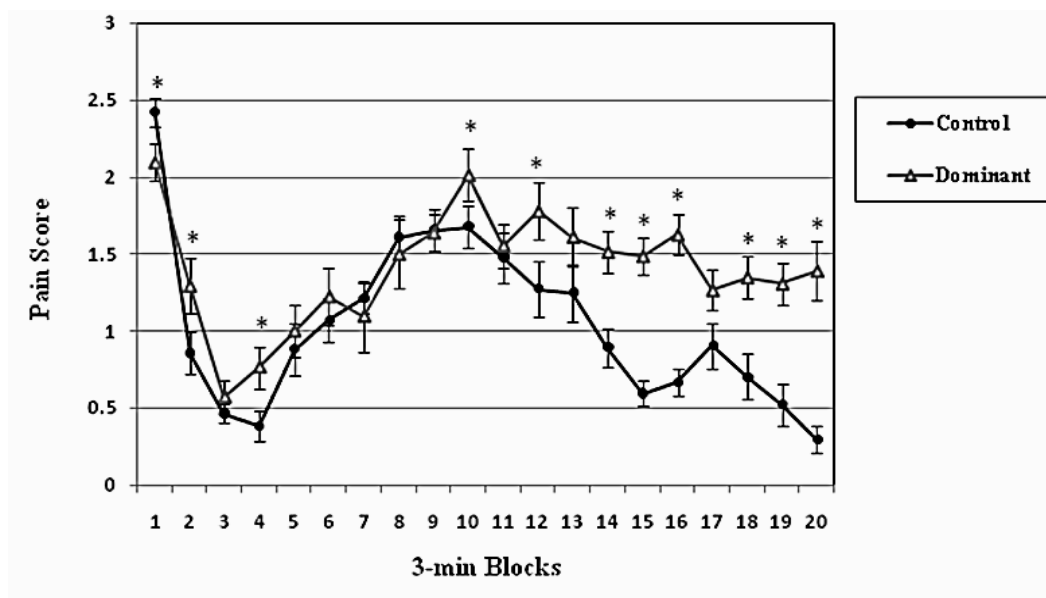
یافته ها

همانطور که انتظار می‌رفت، یک منحنی بای‌فازیک از رفتارهای حاصل از تزریق فرمالین در گروه کنترل دیده شد. به‌طور کلاسیک، اولین پیک پاسخ رفتاری در این بلاک‌های ۳ دقیقه‌ای بیانگر پاسخ به درد حاد بوده، در حالی که 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 [۱]. بر اساس شکل ۱، بین موش‌های گروه کنترل و گروه غالب در تمام بلاک‌ها بجز بلاک‌های ۳، ۵، ۶، ۸، ۹، ۱۱ و ۱۳ تفاوت معنادار آماری وجود دارد ($P < 0.05$). به‌علاوه، بین موش‌های گروه کنترل و گروه مغلوب در بلاک‌های ۲، ۳، ۴، ۷، ۸، ۱۰، ۱۱، ۱۵ و ۱۶ (شکل ۲) دیده می‌شود ($P < 0.05$). همانطور که در شکل ۳ دیده می‌شود، پاسخ درد مزمن تحت تاثیر مغلوب شدن اجتماعی قرار گرفته است ولی تفاوتی بین حیوانات غالب و کنترل از نظر پاسخ درد مزمن دیده نمی‌شود. این شکل تاکید می‌کند که اعمال چنین استرس‌هایی سبب کاهش چشمگیری در پاسخ درد مزمن (هیپوآلژی) موش‌های مغلوب در مقایسه با موش‌های کنترل می‌شود (کنترل: 1.418 ± 0.057 ، مغلوب: 1.016 ± 0.066 ؛ $P < 0.001$). اگرچه اشاره شد که پاسخ درد در فاز دوم تست فرمالین بین گروه کنترل و غالب تفاوت معناداری را نشان نداد (کنترل: 1.418 ± 0.057 ، غالب: 1.502 ± 0.073 ؛ $P = 0.588$)، اما دلیل مشهود بودن تفاوت بین این دو گروه در بلاک‌های انتهایی، ما پاسخ درد را از ۳۶ تا ۶۰ بعد از تزریق فرمالین مقایسه نمودیم و این آنالیز نشان داد که پاسخ درد در موش‌های غالب در این دوره زمانی بسیار بیشتر از موش‌های گروه کنترل بود (کنترل: 0.768 ± 0.057 ، غالب: 1.455 ± 0.073 ؛ $P < 0.001$). مقایسه پاسخ درد در فاز مزمن تست فرمالین بین موش‌های غالب و مغلوب تفاوت معناداری با $P < 0.001$ را نشان داد، به‌طوری‌که پاسخ درد در موش‌های غالب از موش‌های مغلوب بیشتر بود. به‌علاوه، این شکل نشان می‌دهد که در فاز حاد تست فرمالین بین گروه کنترل با گروه

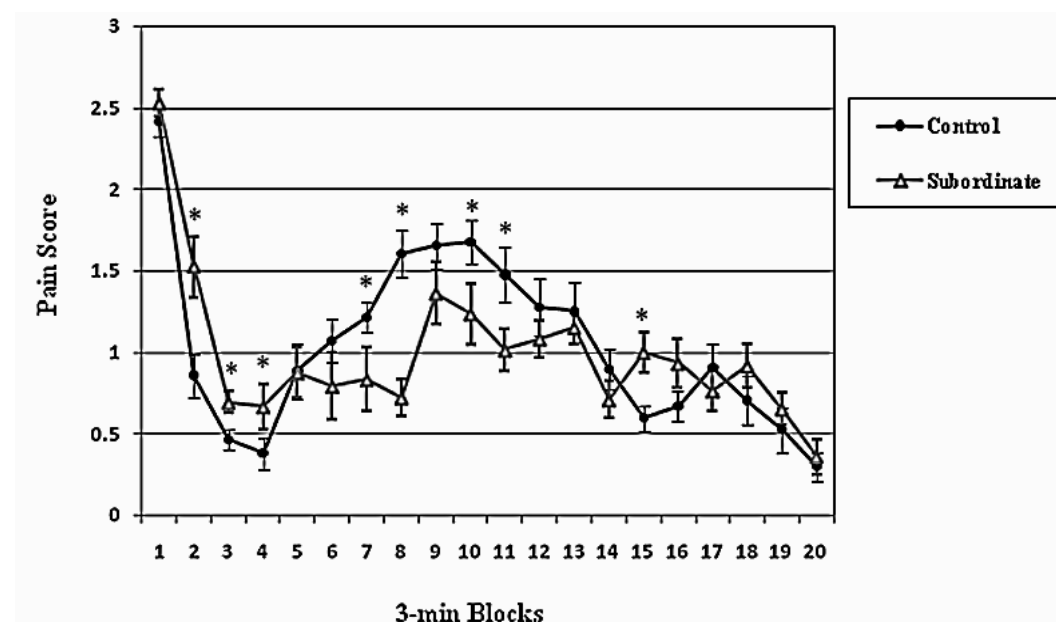
۶ برای هر حیوان به عنوان فاز حاد، میانگین نمرات داده شده در دقایق ۷ تا ۱۰ برای هر حیوان به عنوان اینترفاز و میانگین نمرات داده شده در دقایق ۱۵ تا ۳۵ بعد از تزریق فرمالین به عنوان فاز مزمن در نظر گرفته شد [۵۷، ۶۱] و در جدول داده‌های مربوط به هر گروه قرار گرفت. سپس میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) این 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 [۲۷]. سپس لوله‌ها را سانتریفوژ کرده (به مدت ۱۰ دقیقه 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 -70°C درج سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد از تهیه کیت‌های موشی مورد نیاز با حساسیت ۳ پیکوگرم بر میلی‌لیتر (R&D system)، غلظت سیتوکین‌ها (اینترلوکین ۱ و اینترلوکین ۶) در این سرم‌ها با تکنیک الایزا (این تکنیک فعالیت بیولوژیکی سیتوکاین‌ها را بررسی نمی‌کند) مورد بررسی قرار گرفت [۲۳]. لازم به ذکر است که تمام روش‌های به کار رفته در این مطالعه منطبق با اصول استاندارد و اخلاقی مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی 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 [۶۰].

نتایج تمامی آزمایشات توسط نرم‌افزار سیگما استات^۱ ارزیابی شد، به‌طوری‌که آزمون ANOVA دو طرفه (داده‌های رفتاری درد) و یک طرفه (داده‌های مربوط به غلظت سیتوکاین‌ها) برای مقایسه گروه‌های مورد مطالعه که به دنبال آن آنالیز تکمیلی (post hoc) توکی (Tukey-Kramer) صورت می‌گرفت، مورد استفاده قرار گرفت. نتایج بر حسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) گزارش شد و اختلاف با $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری تعریف شد.

1. Sigma Stat



شکل ۱- تفاوت دریافت درد بعد از تزریق فرمالین بین گروه کنترل و گروه غالب از موش‌های تحت استرس را نشان می‌دهد که در تمام بلاک‌ها بجز بلاک‌های ۳، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۱ و ۱۳ تفاوت معنادار آماری وجود دارد. نتایج برحسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) نشان داده شده است (n=8 برای هر گروه). *: معیار معنی‌دار بودن تفاوت گروه غالب با $P < 0.05$ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

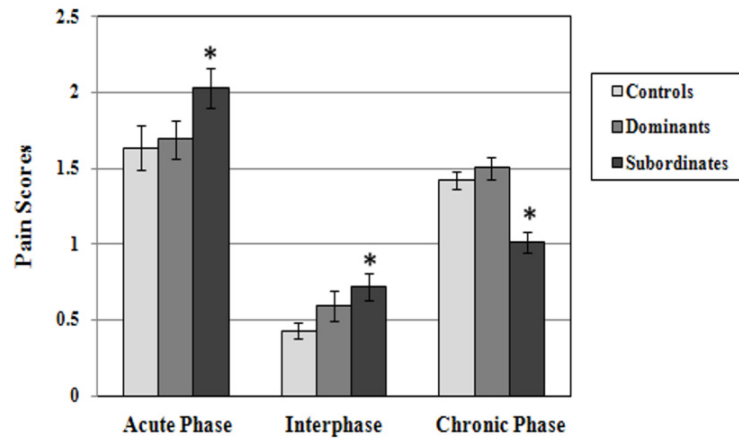


شکل ۲- تفاوت دریافت درد بعد از تزریق فرمالین بین گروه کنترل و گروه مغلوب از موش‌های تحت استرس را نشان می‌دهد که در بلاک‌های ۲، ۳، ۴، ۷، ۸، ۱۰، ۱۱، ۱۵ و ۱۶ تفاوت معنادار آماری دیده می‌شود. نتایج برحسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) نشان داده شده است (n=8 برای هر گروه). *: معیار معنی‌دار بودن تفاوت گروه غالب با $P < 0.05$ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

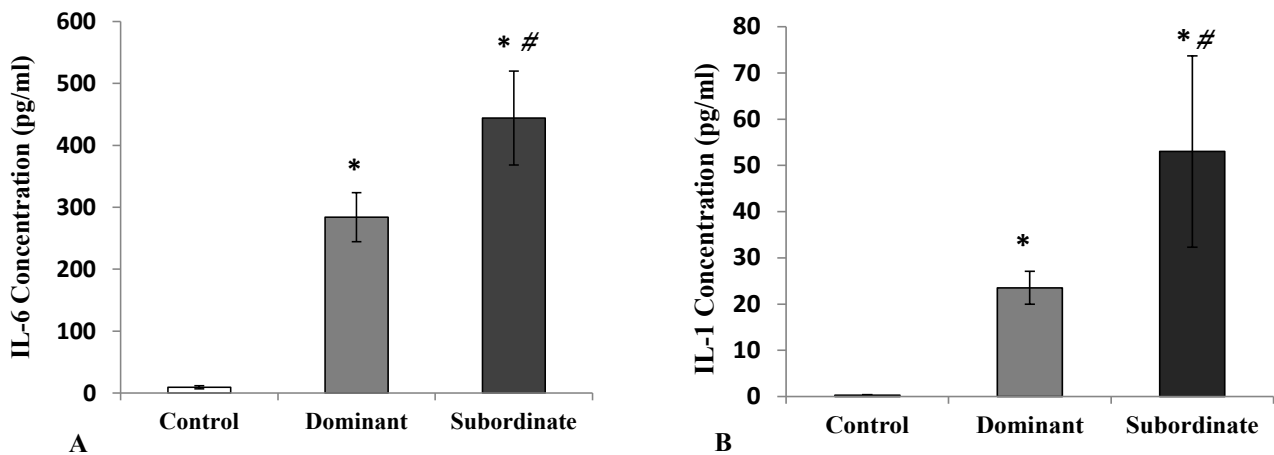
مغلوب دیده می‌شود.

در شکل ۴ قسمت A نشان داده شده است که غلظت اینترلوکین ۶ (بر حسب پیکوگرم بر میلی‌لیتر) در سرم موش‌های غالب (mean±SEM: ۲۷۵/۷۵±۴۰/۰۷) و موش‌های مغلوب (mean±SEM: ۴۴۶/۵۵±۹۸/۸) به مقدار

غالب (کنترل: ۱/۶۳۷±۰/۱۴۶، غالب: ۱/۶۹۴±۰/۱۲۵؛ $P=0.984$)، و نیز گروه مغلوب (کنترل: ۱/۶۳۷±۰/۱۴۶، مغلوب: ۲/۰۲۸±۰/۱۳۱؛ $P=0.085$) تفاوتی وجود ندارد، اگرچه تفاوت معناداری بین موش‌های غالب و مغلوب در فاز حاد تست فرمالین ($P < 0.05$) با بیشترین دریافت درد در موش‌های



شکل ۳- اثرات تفاوت در موقعیت اجتماعی بر رفتارهای درد در طی اینترفاز (دقایق ۶ تا ۱۰)، فاز حاد (دقایق ۰ تا ۶) و فاز مزمن (دقایق ۱۵ تا ۳۵) از تست فرمالین را نشان می‌دهد. نتایج برحسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) نشان داده شده است ($n=8$ برای هر گروه).
 *: معیار معنی‌دار بودن تفاوت موش‌های غالب و مغلوب با $P < 0.05$ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.
 #: معیار معنی‌دار بودن تفاوت موش‌های غالب با $P < 0.05$ نسبت به گروه مغلوب می‌باشد.



شکل ۴- اثرات تفاوت در موقعیت اجتماعی بر غلظت‌های سرمی سیتوکاین‌های پیش‌التهابی در موش مورد مطالعه را نشان می‌دهد. A: اینترلوکین ۶؛ B: اینترلوکین ۱. نتایج برحسب میانگین و خطای انحراف میانگین (SEM) نشان داده شده است ($n=6$ برای هر گروه).
 *: معیار معنی‌دار بودن تفاوت موش‌های غالب و مغلوب با $P < 0.05$ نسبت به گروه کنترل می‌باشد.
 #: معیار معنی‌دار بودن تفاوت موش‌های مغلوب با $P < 0.05$ نسبت به گروه غالب می‌باشد.

غالب بود ($P < 0.05$).

بحث

مطالعات نشان داده است که حیوانات همانند انسانها تفاوت در موقعیت اجتماعی را از طریق یک پدیده زیستی- روانی- عصبی- اجتماعی^۱ درک می‌کنند [۲۰، ۲۶، ۳۳، ۳۷، ۴۶، ۵۹]؛ در این مطالعه ما بررسی کردیم که آیا پاسخ رفتاری به درد در

چشمگیری در مقایسه با حیوانات گروه کنترل ($mean \pm SEM: 6/371 \pm 3/239$; $P < 0.05$) افزایش یافته است و این افزایش در موش‌های مغلوب بیشتر از موش‌های غالب بود ($P < 0.05$). همچنین، بر اساس قسمت B شکل ۴، در کنار افزایش غلظت اینترلوکین ۱ (بر حسب پیکوگرم بر میلی‌لیتر) در سرم موش‌های مغلوب ($mean \pm SEM: 55/275 \pm 17$; $P < 0.05$) و غالب ($mean \pm SEM: 22/75 \pm 5/053$; $P < 0.05$) در مقایسه با گروه کنترل ($mean \pm SEM: 0/167 \pm 0/167$)، غلظت اینترلوکین در سرم موش‌های مغلوب بسیار زیاده‌تر از موش‌های

1. Bio-Psycho-Neuro-Social

جفت موش‌های قرار گرفته در یک قفس تحت تاثیر غالب یا مغلوب شدن در اجتماع قرار می‌گیرد و نیز اینکه آیا تغییری در غلظت سیتوکاین‌های پیش‌التهابی (اینترلوکین ۶ و اینترلوکین ۱) بعد از شکل‌گیری رابطه غالب و مغلوبی وجود خواهد داشت یا خیر؟

اثرات استرس بر پاسخ درد به خوبی شناخته شده است؛ بر این اساس استرس می‌تواند بسته به پارامترهای مربوط به عامل استرس‌زا پاسخ درد را افزایش و یا کاهش دهد. در حقیقت، مهار پاسخ درد در شرایط ترسناک می‌تواند مفید باشد در حالی که در بعضی شرایط دیگر تحریکات دردناک بسیار کارآمد خواهد بود [۳۱]. در مطالعه حاضر ما به منظور ارزیابی اثرات تعدیل‌کننده استرس‌های مزمن اجتماعی بر پاسخ درد، موش‌های نر را تحت تاثیر مدلی از تماس حسی قرار دادیم و سپس پاسخ درد به تزریق فرمالین بعد از شکل‌گیری رابطه غالب و مغلوبی مورد ارزیابی قرار گرفت.

در ابتدای بحث بایستی عنوان نمود که قبلاً در مطالعات مختلف ارتباط استرس مزمن و درد چندان مورد بررسی قرار نگرفته است، و نیز بر اساس دانسته‌های ما، مطالعه‌ای که در آن به بررسی اثرات موقعیت اجتماعی بر فاز مزمن پاسخ به فرمالین در جوندگان پرداخته شده باشد، وجود ندارد؛ در حالیکه ما در این مطالعه تفاوت‌های وابسته به موقعیت اجتماعی را در پاسخ درد مزمن مشاهده نمودیم. گزارش شده است که محرک‌های اجتماعی می‌توانند مدلی بیولوژیکی‌ای از هیپوآلژزی (آنالژزی) القا شده در اثر استرس را بوجود آورند. مغلوب بودن اجتماعی رایج‌ترین رفتار اجتماعی است که به هیپوآلژزی القا شده در اثر استرس منجر می‌شود و در آن هر دو مکانیسم اویپوئیدی و غیراویپوئیدی دخیل هستند [۱۹، ۴۴]. 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)^۱ شناخته می‌شود. به نظر می‌رسد که SIA توسط مکانیسم‌های مشخصی صورت می‌گیرد [۲۴]. علی‌رغم وجود شواهدی مبنی بر نقش سیستم اویپوئیدی اندوژن، بررسی‌های اولیه نشان می‌دهند که هر دو مکانیسم اویپوئیدی و غیراویپوئیدی در SIA

نقش دارند و پیشرفت‌های چشمگیری در شناسایی این مکانیسم‌های غیراویپوئیدی صورت گرفته است [۱]. آنالژزی اویپوئیدی از طریق فعال‌شدن رسپتورهای اویپوئیدی توسط اویپوئیدهای 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 [۳۲]. با در نظر گرفتن این نکته که درد فاز مزمن پاسخ به فرمالین یک درد التهابی است [۱]، بررسی غلظت سیتوکاین‌های پیش‌التهابی در سرم موش‌های مغلوب در مطالعه حاضر، افزایش چشمگیری را در غلظت اینترلوکین ۱ و اینترلوکین ۶ در مقایسه با حیوانات غالب و کنترل نشان داد. بر این اساس می‌توانیم استنباط کنیم که پاسخ هیپوآلژزیک مشاهده شده در فاز مزمن تست فرمالین در موش‌های مغلوب احتمالاً با فعال‌شدن محیطی و مرکزی رسپتورهای اویپوئیدی از طریق سیتوکاین‌های پیش‌التهابی مرتبط می‌باشد. مطالعه سونودا که نقش استرس‌های اجتماعی در کاهش حساسیت سلول‌های ایمنی به گلوکوکورتیکوئیدها و ایجاد التهاب شدید را بیان می‌کند [۵۵]، می‌تواند توجیه‌کننده نقش رسپتورهای اویپوئیدی محیطی در کاهش درد باشد؛ به این ترتیب که در مطالعه بی^۲ و همکاران نشان داده شده است که استرس‌های اجتماعی حساسیت سلول‌های ایمنی را به گلوکوکورتیکوئیدها کاهش داده [۱۰] و التهاب بافت محیطی، منجر به افزایش سنتز و انتقال اکسونی رسپتورهای اویپوئیدی 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. به علاوه، تعداد پایانه‌های رسپتورهای درد افزایش یافته و غلاف دور نورونی تخریب شده، به دنبال آن دسترسی آگونیست‌های اویپوئیدی به این رسپتورها تسهیل خواهد شد. تمام این اثرات سبب ایجاد یک پاسخ آنالژزیک مناسب بوسیله اثر اویپوئیدها بر رسپتورهای اویپوئیدی‌شان در طی التهاب می‌شود [۴۹].

استرس می‌تواند بسته به نوع عامل استرس‌زا و شدت و مدت آن سبب هیپرآلژزی شود [۲۸]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پاسخ درد مزمن در ۲۵ دقیقه انتهایی از تست فرمالین موش‌های غالب نسبت به موش‌های کنترل بیشتر بود. مطالعه

1. Stress-induced Analgesia

مدل‌های حیوانی مرتبط با سایکوپاتولوژی‌ها بیشتر از مغلوب بودن اجتماعی برای ارزیابی مکانیسم‌های بیولوژیکی دخیل در اتیولوژی بیماری‌های مرتبط با استرس استفاده نموده‌اند. لذا نشان داده شده است که مغلوب بودن اجتماعی پروسه‌های ایمنی التهابی نظیر تغییرات سیتوکاین‌های پیش‌التهابی (اینترلوکین ۶ و اینترلوکین ۱) در خون، ریه، طحال و مغز را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۵].

مطالعه حاضر افزایش غلظت سیتوکاین‌های پیش‌التهابی سرم در موش‌های غالب و مغلوب (به‌خصوص در موش‌های مغلوب) را نشان داد. تصور می‌شود 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 [۴۱]. 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^۳ 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 پیش‌التهابی می‌شوند، بلکه تنظیم چنین پاسخی را نیز تغییر می‌دهند. سطوح بالای کورتیزول به طور تیبیک سبب مهار تولید و بیان ژنی سایتوکاین‌های پیش‌التهابی می‌شود [۱۷]؛ 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 [۵۳].

به عبارتی دیگر، استرس‌های اجتماعی می‌توانند توانایی گلوکوکورتیکوئیدها را در جلوگیری از ایجاد پاسخ‌های التهابی کاهش دهند، چنین پاسخی می‌تواند نتیجه کاهش رسپتورهای گلوکوکورتیکوئیدی در سلول‌های ایمنی تولیدکننده سایتوکاین-

وان^۱ در سال ۲۰۰۰ نشان داد که رفتار تهاجمی و غالب سبب کاهش ۸۰ درصدی سروتونین نسبت به سطوح پایه آن در کورتکس پره‌فروتال موش‌های صحرایی نر می‌شود [۵۸]. شاید بتوان پردردی مشاهده شده در فاز مزمن پاسخ فرمالین در موش‌های غالب را به میزان کم سروتونین در این حیوانات نسبت داد، چرا که سروتونین یکی از مدیاتورهای دخیل در نورون‌های مهارکننده درد بوده و سبب کاهش پاسخ درد می‌شود [۳۶، ۴۲]. بطوریکه سطوح پایین سروتونین در سرم افرادی که میگر^۳ و فیبرومیالژی را بطور مزمن تجربه می‌کنند [۳۸] و نقص سروتونینی در افرادی که رفتارهای تهاجمی نشان می‌دهند [۵۸]، مشاهده شده است. لذا بررسی نقش سروتونین در استرس‌های اجتماعی نظیر رابطه غالب-مغلوبی می‌تواند یکی از اهداف ما در مطالعات بعدی باشد.

ما همچنین اثرات موقعیت اجتماعی را بر پاسخ درد حاد در تست فرمالین بررسی نمودیم و دریافتیم که مغلوب شدن مکرر سبب هایپرآلژزی حاد در موش‌های مغلوب شده و چنین چیزی متفاوت از موش‌های غالب که در فاز حاد میزان درد کمتری را احساس می‌کردند، بود. در حیوان‌ها نشان داده شده است که مواجهه مکرر با شرایط استرس‌زایی نظیر مغلوب بودن اجتماعی منجر به هیپرآلژزی حاد می‌شود [۴۸]؛ به طوریکه برای توضیح این پدیده بر مسیرهای نزولی دخیل در هیپرآلژزی القا شده در اثر مغلوب بودن اجتماعی تاکید شده است [۵۷]. چنین نتایجی با نتایج بدست آمده در مطالعه جیوزا^۲ و همکاران که در آن موش‌های غالب دچار هیپرآلژزی و موش‌های مغلوب دچار هیپوآلژزی در فاز حاد آزمایش فرمالین شده بودند [۲۲]، مغایرت دارد و شاید ما بتوانیم این تفاوت را به روش‌های متفاوت ارزیابی درد در تست فرمالین نسبت دهیم، یعنی ما در این مطالعه از سیستم نمره‌دهی درد استفاده نمودیم در حالیکه در مطالعه ذکر شده مدت زمان لیسیدن پنجه تزریق شده به عنوان معیار درد محسوب می‌شد. بعلاوه، دیگر تفاوت‌های موجود بین مطالعه ما با مطالعه جیوزا نژاد موش‌های مورد استفاده و دوز فرمالین تزریق شده می‌باشد که نیاز به بررسی‌های تفصیلی‌تر در این راستا را آشکار می‌سازد.

1. Van
2. Gioiosa

ارتباط با استرس‌های اجتماعی باشد.

نتیجتاً این مطالعه بر ارتباط استرس‌های اجتماعی (به‌خصوص استرس مغلوب بودن در اجتماع) با پاسخ درد و نیز ارتباط آن با افزایش سیتوکاین‌های التهابی تاکید می‌کند. به نظر می‌رسد که استرس از طریق سیتوکاین‌های پیش‌التهابی منجر به آزاد شدن پپتیدهای اوپیوئیدی اندوژن شده و لذا پاسخ درد مزمن را در موش‌های مغلوب کاهش داده است، ولی با وجود افزایش تولید این سیتوکاین‌ها در موش‌های غالب پاسخ درد مزمن افزایش یافته است؛ لذا نیاز به بررسی‌های بیشتر برای درک مکانیسم‌های دخیل در هیپوالژی و هیپرالژی بعد از استرس‌های اجتماعی وجود دارد که در آن سروتونین می‌تواند نقشی کلیدی ایفا کند.

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.

های پیش‌التهابی باشد که منجر به افزایش این سیتوکاین‌ها خواهد شد [۶]. بعلاوه، 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 حالی که سطوح افزایش یافته ناچیز گلوکوکورتیکوئیدها اثرات ضد التهابی دارد و چنین پاسخی متفاوت از اثر آنها در محیط می‌باشد [۲۱]. و لذا در مطالعه ما احتمالاً گلوکوکورتیکوئیدها هم در سیستم عصبی مرکزی و هم در محیط اثرگذار بوده‌اند و منجر به افزایش سیتوکاین‌های التهابی شده‌اند. و در انتها بایستی تاکید کنیم که در حیواناتی که مغلوب بودن اجتماعی را تجربه می‌کنند، میزان تولید سیتوکاین‌های پیش‌التهابی بیشتر از دیگر انواع استرس نظیر غالب بودن در اجتماع می‌باشد و کاهش حساسیت گلوکوکورتیکوئیدی مختص استرس مغلوب بودن در اجتماع بوده و استرس‌های دیگر چنین تغییرات شدیدی را در سیستم ایمنی بوجود نمی‌آورند [۱۷] و در نتیجه بررسی مقاومت گلوکوکورتیکوئیدی می‌تواند یکی دیگر از اهداف آینده ما در

References

- [1] Aghajani M, Vaez Mahdavi MR, Ghazanfari T, Khalili M, Azimi A, ArbabSoleymani S, Mahdidust S, The effect of social stresses on pain behaviour, immune cells and serum concentration of TNF- α , Interleukin-1 and Interleukin-6 in female mice. *Physiol Pharmacol* 15 (2012) 545-561.
- [2] Andre J, Zeau B, Pohl M, Cesselin F, Benoliel JJ, Becker C, Involvement of cholecystokinergic systems in anxiety-induced hyperalgesia in male rats: behavioral and biochemical studies. *J Neurosci* 25 (2005) 7896-7904.
- [3] Arregi A, Azpiroz A, Fano E, Garmendia L, Aggressive behavior: Implications of dominance and subordination for the study of mental disorders. *Aggress Violent Behav* 11 (2006) 394-413.
- [4] 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.
- [5] Audet MC, Jacobson-Pick S, Wann BP, Anisman H, Social defeat promotes specific cytokine variations within the prefrontal cortex upon subsequent aggressive or endotoxin challenges. *Brain Behav Immun* 25 (2011) 1197-1205.
- [6] Avitsur R, Padgett DA, Sheridan JF, Social interactions, stress, and immunity. *NeurolClin* 24 (2006) 483-491.
- [7] Avitsur R, Kavelaars A, Heijnen C, Sheridan JF, Social stress and the regulation of tumor necrosis factor-[alpha] secretion. *Brain Behav Immun* 19 (2005) 311-317.
- [8] Avitsur R, Padgett DA, Dhabhar FS, Stark JL, Kramer KA, Engler H, Sheridan JF, Expression of glucocorticoid resistance following social stress requires a second signal. *J Leukocyte Biol* 74 (2003) 507-513.
- [9] Azpiroz A, Garmendia L, Fano E, Sanchez-Martin JR, Relations between aggressive behavior, immune activity, and disease susceptibility. *Aggress Violent*

- Behav* 8 (2003) 433-453.
- [10] Bi S, Robinson BM, Moran TH, Acute food deprivation and chronic food restriction differentially affect hypothalamic NPY mRNA expression. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285 (2003) R1030-R1036.
- [11] Biondi M, Effects of stress on immune functions: an overview. *Psychoneuroimmunol* 2 (2001) 189-226.
- [12] Borsook TK, MacDonald G, Mildly negative social encounters reduce physical pain sensitivity. *Pain* 151 (2010) 372-377.
- [13] Brodtkin ES, Hagemann A, Nemetski SM, Silver LM, Social approach-avoidance behavior of inbred mouse strains towards DBA/2 mice. *Brain Res* 1002 (2004) 151-157.
- [14] Danielle CC, *The Impact of social subordination on stress reactivity and cognitive abilities in CD-1 outbred mice*. [Dissertation]. St. New Brunswick: New Jersey Univ., 2010.
- [15] Dhabhar FS, Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection and immunopathology. *Neuroimmunomodulation* 16 (2009) 300-317.
- [16] Dhabhar FS, A hassle a day may keep the pathogens away: The fight-or-flight stress response and the augmentation of immune function. *Integr Comp Biol* 49 (2009) 215-236.
- [17] Dickerson SS, Gable SL, Irwin MR, Aziz N, Kemeny ME, Social-evaluative threat and proinflammatory cytokine regulation. *Psychol Sci* 20 (2009) 1237-1244.
- [18] Dorner TE, Muckenhuber J, Stronegger WJ, Ràsky V, Gustorff B, Freidl W, The impact of socio-economic status on pain and the perception of disability due to pain. *Eur J Pain* 15 (2011) 103-109.
- [19] Ford GK, Finn DP, Clinical correlates of stress-induced analgesia: evidence from pharmacological studies. *Pain* 140 (2008) 3-7.
- [20] Fuchs E, Flugge G, Social stress in tree shrews: Effects on physiology, brain function, and behavior of subordinate individuals. *Pharmacol Biochem Behav* 73 (2002) 247-258.
- [21] Garcí'a-Bueno B, Caso J.R, Leza JC, Stress as a neuroinflammatory condition in brain: Damaging and protective Mechanisms (review). *Neurosci Biobehav Rev* 32 (2008) 1136-1151.
- [22] Gioiosa 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.
- [23] Glynn P, Coakley R, Kilgallen I, Murphy N, O'Neill S, Circulating interleukin 6 and interleukin 10 in community acquired pneumonia. *Thorax* 54(1999)51-55.
- [24] Gomes A, *Alterations in Hippocampal Neurogenesis and Pain Behavior in Mice: An Experimental Study* [dissertation]. Ave. 370 Lancaster: Haverford College Psychology Dep., 2009.
- [25] Goymann W, Wingfield JC, Allostatic load, social status and stress hormones: the costs of social status matter. *Anim Behav* 67 (2004) 591-602.
- [26] Heidary F, Mahdavi MRV, Momeni F, Minaai B, Rogani M, Fallah N, Heidary R, Gharebaghi R, Food inequality negatively impacts cardiac health in rabbits. *PloS one* 3 (2008) e3705.
- [27] Hoff J, Technique methods of blood collection in the mouse. *Lab Animal-New York* 29 (2000) 47-54.
- [28] Imbe H, Iwai-Liao Y, Senba E, Stress-induced hyperalgesia: animal models and putative mechanisms. *Front Biosci* 11 (2006) 2179-2192.
- [29] Kalueff A, Minasyan A, Keisala T, Shah Z, Tuohimaa P, Hair barbering in mice: implications for neurobehavioural research. *Behav processes* 71 (2006) 8-15.
- [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. *PNAS* 100 (2003) 9090-9095.
- [31] Langford DJ, Tuttle AH, Briscoe C, Harvey-Lewis C, Baran I, Gleeson P, Fischer DB, Buonora M, Sternberg WF, Mogil JS, Varying perceived social threat modulates pain behavior in male mice. *J Pain* 12 (2010) 125-132.
- [32] Machelska H, Schopohl JK, Mousa SA, Labuz D, Schafer M, Stein C, Different mechanisms of intrinsic pain inhibition in early and late inflammation. *J Neuroimmunol* 141 (2003) 30-39.
- [33] Marini F, Pozzato C, Andreetta V, Jansson B, Arban R, Domenici E, Carboni L, Single exposure to social defeat increases corticotropin-releasing factor and glucocorticoid receptor mRNA expression in rat hippocampus. *Brain Res* 1067 (2006) 25-35.
- [34] Martenson ME, Cetas JS, Heinricher MM, A possible neural basis for stress-induced hyperalgesia. *Pain* 142

- (2009) 236-244.
- [35] Meagher MW, Welch CR, Cytokines Mediate the Adverse Effects of Social Stress in an Animal Model of Multiple Sclerosis. *APA PsycholSci Agenda* 22 (2008) Available from: <http://www.psicol.unam.mx/profesionales/psiclinica/iem/descargas/pdf>.
- [36] Miczek KA, Fish EW, De Bold JF, De Almeida RM, Social and neural determinants of aggressive behavior: pharmacotherapeutic targets at serotonin, dopamine and -aminobutyric acid systems. *Psychopharmacol* 163 (2002) 434-458.
- [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 ApplSci J* 8 (2010) 680-686.
- [38] Morin P, The serotonin connection: A study of social adversity, stress, depression, pain and serotonin neurotransmission. *Biological asis of Behavior* (2003) Available from: <http://www.creativehealing.org/The Serotonin Connection.pdf>
- [39] Nevison C, Hurst J, Barnard C, Strain-specific effects of cage enrichment in male laboratory mice (*Mus musculus*). *Anim Welfare* 8 (1999) 361-379.
- [40] Nevison CM, Barnard CJ, Beynon RJ, Hurst JL, The consequences of inbreeding for recognizing competitors. *Proc R Soc Lond B* 267 (2000) 687-694.
- [41] O'Connor T, O'Halloran D, Shanahan F, The stress response and the hypothalamic pituitary adrenal axis: from molecule to melancholia. *QJM* 93 (2000) 323-333.
- [42] Padgett DA, Glaser R, How stress influences the immune response. *Trends Immunol* 24 (2003) 444-448.
- [43] Petitto JM, Garipey JL, Gendreau PL, Rodriguiz R, Lewis MH, Lysle DT, Differences in NK cell function in mice bred for high and low aggression: genetic linkage between complex behavioral and immunological traits? *Brain Behav Immun* 13 (1999) 175-186.
- [44] Petrovic P, Kalso E, Petersson KM, Andersson J, Fransson P, Ingvar M, A prefrontal non-opioid mechanism in placebo analgesia. *Pain* 150 (2010) 59-65.
- [45] Rabin BS, author. *Stress, immune function, and health: The connection*. New York: Wiley-Liss, 1999.
- [46] Razzoli M, Carboni L, Andreoli M, Ballottari A, Arban R, Different susceptibility to social defeat stress of BalbC and C57BL6/J mice. *Behav Brain Res* 216 (2011) 100-108.
- [47] Rettich A, Kasermann HP, Pelczar P, Burki K, Arras M, The physiological and behavioral impact of sensory contact among unfamiliar adult mice in the laboratory. *J Appl AnimWelf Sci* 9 (2006) 277-288.
- [48] Richebe P, Rivat C, Cahana A, Stress-induced Hyperalgesia: Any clinical relevance for the anesthesiologist? *Anesthesiology* 114 (2011) 1280-1281.
- [49] Rittner HL, Machelska H, Stein C, Leukocytes in the regulation of pain and analgesia. *J Leukocyte Biol* 78 (2005) 1215-1222.
- [50] Rivat C, Becker C, Blugeot A, Zeau B, Mauborgne A, Pohl M, Chronic stress induces transient spinal neuroinflammation, triggering sensory hypersensitivity and long-lasting anxiety-induced hyperalgesia. *Pain* 150 (2010) 358-368.
- [51] Rohde P, The relevance of hierarchies, territories, defeat for depression in humans: hypotheses and clinical predictions. *J Affect Disorders* 65 (2001) 221-230.
- [52] Sankoorikal GMV, Kaercher KA, Boon CJ, Lee JK, Brodtkin ES, A mouse model system for genetic analysis of sociability: C57BL/6J versus BALB/cJ inbred mouse strains. *Biol Psychiatry* 59 (2006) 415-423.
- [53] Sapolsky RM, The influence of social hierarchy on primate health. *Science* 308 (2005) 648-652.
- [54] Sapolsky RM, Endocrinology alfresco: psychoendocrine studies of wild baboons. *Recent Prog Horm Res* 48 (1993) 437-468.
- [55] Sonoda J, Chida Y, Sudo N, Kubo C, Social disruption stress exacerbates alpha-galactosylceramide- induced hepatitis in mice. *Neuroimmunomodulation* 12 (2005) 375-9.
- [56] Stark JL, Avitsur R, Padgett DA, Campbell KA, Beck FM, Sheridan JF, Social stress induces glucocorticoid resistance in macrophages. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280 (2001) R1799-1805.
- [57] Sufka KJ, Watson G, Nothdurft RE, Mogil JS, Scoring the mouse formalin test: validation study. *Eur J Pain* 2 (1998) 351-358.
- [58] Van Erp AMM, Miczek KA, Aggressive behavior, increased accumbal dopamine, and decreased cortical serotonin in rats. *J Neurosci* 20 (2000) 9320-9325.
- [59] Williams AE, Rhudy JL, The influence of conditioned fear on human pain thresholds: Does preparedness a

- role? *J Pain* 8 (2007) 598-606.
- [60] Zimmermann M, Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16 (1983) 109-110.
- [61] Zhao Ch, Tao Y, Tall JM, Donovan D, Meyer R, Raja S, Role of μ -opioid receptors in formalin-induced pain behavior in mice. *ExpNeurol* 84 (2003) 839-845.