

بررسی اثر اکسی‌توسین در هسته‌ی لوکوس سرولتوس بر اضطراب ناشی از آزمون تعارض وگل در حضور و غیاب یوهمبین در موش صحرایی نر

سکینه زال خانی^۱، دکتر مهناز کسمتی^۱، دکتر فریده زنگنه^۲، دکتر عبدالرحمن راسخ^۱

۱) گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز؛ ۲) گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور
نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: اهواز، دانشگاه شهید چمران، دانشکده‌ی علوم، گروه زیست‌شناسی، دکتر مهناز
کسمتی e-mail:mahnazkessmati@yahoo.com

چکیده

مقدمه: هسته‌ی لوکوس سرولتوس در تنظیم برخی از رفتارهای فیزیولوژیک مانند درد، اضطراب، خواب و بیداری، یادگیری و حافظه نقش دارد. برخی مطالعه‌ها نشان داده‌اند که این هسته دارای نورون‌های آدرنرژیک و گیرنده‌های آلفا-۲ است که از هسته‌ی پاراونتریکولار هیپوتالاموس، نورون‌های اکسی‌توسینرژیک نیز دریافت می‌کند. نقش این نوروپپتید و مکانیسم عمل آن کاملاً روشن نشده نیست. از آنجایی که نشان داده شده تجویز مزمن اکسی‌توسین اضطراب را کاهش می‌دهد. در این مطالعه اثر تزریق حاد اکسی‌توسین در هسته‌ی لوکوس سرولتوس (LC) و تداخل آن با گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک موجود در این هسته، بر رفتار اضطرابی ناشی از آزمون تعارض وگل مورد بررسی قرار گرفته است. **مواد و روش‌ها:** موش صحرایی نر بالغ با میانگین وزنی 285 ± 15 در ۶ گروه، شاهد تزریق، دریافت کننده‌ی اکسی‌توسین، یوهمبین، دریافت کننده‌ی یوهمبین + اکسی‌توسین، دریافت کننده‌ی سالین + اکسی‌توسین و دریافت کننده‌ی یوهمبین + اکسی‌توسین تقسیم شدند. همه‌ی داروها در هسته‌ی لوکوس سرولتوس به کمک سرنگ هامیلتون تزریق شد. تعداد شوک دریافتی هنگام نوشیدن آب به عنوان شاخص اضطراب طی پانزده دقیقه در دستگاه تعارض وگل اندازه‌گیری شد. **یافته‌ها:** اکسی‌توسین تعداد دریافت شوک را کاهش داد (اثر اضطراب‌زایی). بلوک گیرنده‌های آلفا-۲ توسط یوهمبین تعداد دریافت شوک را کاهش داد (اثر اضطراب‌زایی). اثر اضطراب‌زایی اکسی‌توسین در حضور یوهمبین افزایش یافت. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک موجود در هسته‌ی لوکوس سرولتوس نقش تعدیلی بر پدیده‌ی اضطراب و خاصیت اضطراب‌زایی اکسی‌توسین دارد و با بلوک گیرنده‌ی مذکور این اثر حذف می‌شود.

واژگان کلیدی: اکسی‌توسین، یوهمبین، لوکوس سرولتوس، اضطراب، آزمون تعارض وگل

دریافت مقاله: ۸۵/۳/۲۹ - دریافت اصلاحیه: ۸۵/۱۱/۱۱ - پذیرش مقاله: ۸۵/۱۱/۱۴

مقدمه

هیپوکامپ، هسته‌های مسیر منزوی، هیپوتالاموس و لوکوس سرولتوس می‌باشند که گیرنده‌های اکسی‌توسینی نیز در این

مدارهای نورونی که واکنش اضطرابی به یک محرک استرس‌زا را موجب می‌شوند، شامل فیبرهایی از آمیگدال،

و درون هسته‌ی لوکوس سرولئوس انجام شد. حیوانات به شش گروه تقسیم شدند:

گروه شاهد: این گروه سالی‌ن را با حجم $2\mu\text{L}$ در درون هسته‌ی لوکوس سرولئوس دریافت کردند.

گروه دریافت‌کننده‌ی اکسی‌توسین $2\text{ ng}/2\mu\text{L}$: این گروه اکسی‌توسین (حل شده در سالی‌ن) را به صورت تزریق درون هسته‌ی لوکوس سرولئوس دریافت کردند.

گروه دریافت‌کننده‌ی یوهمبین $2/3\mu\text{g}/2\mu\text{L}$: این گروه محلول یوهمبین را به صورت تزریق درون هسته‌ی لوکوس سرولئوس دریافت کردند.

گروه دریافت‌کننده‌ی سالی‌ن + اکسی‌توسین: این گروه ابتدا سالی‌ن و بعد از ۵ دقیقه اکسی‌توسین ($2\text{ ng}/2\mu\text{L}$) دریافت کردند.

گروه دریافت‌کننده‌ی یوهمبین + سالی‌ن: این گروه ابتدا یوهمبین و بعد از ۵ دقیقه سالی‌ن دریافت کردند.

گروه دریافت‌کننده‌ی هم‌زمان یوهمبین و اکسی‌توسین: این گروه ابتدا یوهمبین ($2/3\mu\text{g}/2\mu\text{L}$) و بعد از ۵ دقیقه اکسی‌توسین ($2\text{ ng}/2\mu\text{L}$) دریافت کردند.

روش تزریق مواد به هسته‌ی لوکوس سرولئوس:

برای تزریق مواد به داخل هسته‌ی لوکوس سرولئوس، کانولی با استفاده از دستگاه استریوتاکس در مغز موش کاشته شد. بعد از بیهوشی حیوان توسط مخلوط کتامین ($100\text{ mg}/\text{Kg}$) و رامپون ($5\text{ mg}/\text{Kg}$) و ثابت شدن سر حیوان در دستگاه، موهای سر توسط ماشین تمیز شد، بعد از ضد عفونی کردن محل از خط وسط اتصالی گوشه‌ی چشم‌ها تا خط اتصالی گوش‌های حیوان یک شکاف ۲-۱ سانتی‌متری توسط اسکالپل ایجاد شد. بعد از تمیز کردن سطح جمجمه نقاط برگما و لامبدا مشخص شدند. مختصات هسته‌ی LC ($D = 6/9$ و $L = \pm 1/2$, $AP = 6/5$) تعیین و کانولی با زاویه‌ی ۲۵ درجه (برای جلوگیری از ایجاد اختلال حرکتی) کاشته شد. کانول‌ها از سر سوزن شماره‌ی ۲۱ از جنس فولاد زنگ نزن تهیه شدند و بعد از اینکه دو سوراخ یک میلی‌متری در دو طرف جمجمه بر اساس مختصات ذکر شده ایجاد شد، کانول راهنما با زاویه‌ی فوق از مسیر قدامی و به عمق $6/9$ میلی‌متر از سطح جمجمه وارد شد و یک میلی‌متر بالای هسته قرار گرفت. کانول‌ها با دو پیچ عینک و سیمان دندان پزشکی روی جمجمه ثابت شدند و سپس با استفاده از سر سوزن ۲۵ سیم نازکی در سر کانول‌ها قرار داده شد تا از ورود مواد خارجی و بسته شدن کانول‌ها جلوگیری شود. بعد از بخیه‌ی پوست

نواحی گسترده‌اند.^۱ لوکوس سرولئوس یکی از مراکز عصبی است که پاسخ‌های استرسی را پردازش نموده، پاسخ جنگ‌گریز را فعال می‌کند.^۲ برخی مطالعه‌ها افزایش واکنش‌پذیری گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک لوکوس سرولئوس را در رت‌هایی که با اکسی‌توسین مزمن پیش‌تیمار شده بودند نشان داده‌اند.^۳ این یافته‌ها این احتمال را که ممکن است گیرنده‌های اکسی‌توسینی با گیرنده‌های آلفا-۲ مرکزی تداخل داشته باشند و سبب تأثیر طولانی مدت آن شوند، قوت می‌بخشد.

پیشنهاد شده است که اکسی‌توسین با آدرنورسپتورهای مرکزی واکنش می‌کنند و اثر تسهیلی بر الگوبرداری این گیرنده‌ها ایجاد می‌کنند. درحقیقت کاهش فشارخون و آرامش رفتاری القا شده توسط تزریق آگونیست‌های آلفا-۲ آدرنورسپتورها با تزریق اکسی‌توسین تقویت می‌شود.^۴

از سوی دیگر نشان داده شده تزریق اکسی‌توسین در بخش‌های مغزی ویزگی‌های اتصال آلفا-۲ آدرنورسپتورها را در هیپوتالاموس، آمیگدال و هسته مسیر منزوی تغییر می‌دهد و اثر اصلی آن کاهش تمایل گیرنده‌های فوق در آمیگدال و هیپوتالاموس می‌باشد.^{۵-۷} از آنجا که لوکوس سرولئوس یکی از مراکز مغزی درگیر در واکنش به استرس است و دارای آوران‌های اکسی‌توسینی می‌باشد و با توجه به تناقض‌های فوق، در این مطالعه اثر تزریق حاد اکسی‌توسین در این هسته و تداخل آن با گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنورسپتورها بر اضطراب ناشی از آزمون تعارض وگل در موش صحرایی نر بررسی شده است.

مواد و روش

در این مطالعه، از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن 20 ± 290 گرم استفاده شد. حیوانات در گروه‌های ۶ تایی نگهداری شده و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشتند. همه‌ی آن‌ها دسترسی آزادانه به آب و غذای مخصوص داشتند.

در این مطالعه از اکسی‌توسین (شرکت داروسازی رشت) و یوهمبین (شرکت سیباگایگی) استفاده شد. اکسی‌توسین برای تزریق به داخل هسته‌ی لوکوس سرولئوس در سالی‌ن حل شد. تمام تزریق‌ها در زمان دو دقیقه به صورت مرکزی

این بار به مدت ۱۰ دقیقه و تا سیراب شدن کامل در دستگاه ماند، بدون این‌که شوک الکتریکی دریافت نماید.

در هفته بعد آزمایش‌های اصلی انجام شد، به این ترتیب که ۵ روز قبل از آزمایش‌ها از ساعت ۹ صبح الی ۲ عصر به مدت ۵ روز حیوانات دستی شدند، تا اضطراب ناشی از دست طی آزمون به حداقل برسد. به مدت ۲۶ ساعت به حیوان آب داده نشد. ابتدا داروی مورد نظر با استفاده از سرنگ هامیلتون، طی ۲ دقیقه، به درون هر یک از هسته‌ها تزریق شد. این بار جریان برق به دستگاه وصل شد و هر حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار گرفت و در این مدت جریان ۴۰ ولتی برقرار شد. طی مدت ۱۵ دقیقه، تعداد دریافت شوک حیوان در مسیر آب خوردن، ثبت شد. پس از اتمام کار محفظه با پنبه و الکل کاملاً تمیز شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها توسط نرم افزار SPSS آنالیز جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون تی استفاده شد. نمودارها به صورت میانگین (\pm انحراف معیار) نشان داده شدند و $p < 0.05$ به عنوان حداقل سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اثر تزریق اکسی‌توسین در هسته‌ی لوکوس سرولوئوس بر شوک دریافتی در دستگاه تعارض و گل: نمودار ۱ اثر تزریق اکسی‌توسین را در هسته‌ی لوکوس سرولوئوس بر تعداد شوک دریافتی نسبت به گروه شاهد در آزمون وگل نشان می‌دهد. نتایج آماری نشان داد بین گروه دریافت‌کننده‌ی سالین و اکسی‌توسین از نظر تعداد شوک دریافتی با $p < 0.05$ اختلاف معنی‌دار وجود دارد که بیانگر افزایش اضطراب در گروه دریافت‌کننده اکسی‌توسین می‌باشد.

اثر تزریق یوهمبین در هسته‌ی لوکوس سرولوئوس بر شوک دریافتی در دستگاه تعارض وگل: در نمودار ۱ نیز اثر تزریق یوهمبین در هسته‌ی لوکوس سرولوئوس بر تعداد شوک دریافتی نسبت به گروه شاهد در آزمون وگل نشان داده شده است. نتایج آماری نشان داد بین گروه دریافت‌کننده‌ی سالین و یوهمبین از نظر تعداد شوک دریافتی با $p < 0.05$ اختلاف معنی‌دار وجود دارد که بیانگر افزایش اضطراب در گروه دریافت‌کننده‌ی یوهمبین می‌باشد.

سر، به حیوان ۰/۱ میلی‌لیتر پنی‌سیلین ۴۰۰۰۰۰ برای جلوگیری از عفونت تزریق و حیوان به محل گرم منتقل شد. پس از گذشت دو هفته از جراحی و استحصال بهبودی حیوانات، تزریق‌ها انجام گرفت. لازم به ذکر است در مدت دو هفته بهبودی، هر روز منفذ کانول‌ها با سرسوزن ۲۵ پاک و حیوانات نیز دستی شدند. تزریق دوطرفه‌ی داروها با سرنگ ۲۵μL هامیلتون (Hamilton Co., Reno) و لوله‌ی پلاستیکی PE-10 در مدت ۲ دقیقه به صورت دستی انجام شد و پنج دقیقه بعد از تزریق رفتار اضطرابی به وسیله‌ی دستگاه تعارض وگل مورد ارزیابی قرار گرفت.

دستگاه تعارض وگل شامل یک اتاقک به ابعاد ۲۵×۲۵×۴۵ سانتی‌متر است که خود به دو اتاقک کوچکتر تقسیم شده است.

در یکی از این اتاقک‌ها ظرف آبی در انتهای یک مسیر کانال مانند قرار دارد. کف این مسیر کانال مانند تا ظرف آب، پدال فلزی تعبیه شده است که با فشار پدال، شوک الکتریکی به حیوان وارد می‌کند.

دستگاه از جنس فایبرگلاس شفاف بوده، کل دستگاه درون یک پوشش آلومینیمی با پایه‌های ۵ سانتی‌متری از کف زمین قرار داده شده است. این دستگاه به یک دستگاه استیمولاتور متصل است که جریان برقی با ولتاژ حداقل ۴۰ ولت برقرار می‌کند. در این دستگاه، اساس ارزیابی اضطراب، تعارضی است که در حیوان تشنه برای انتخاب بین آب خوردن یا شوک دریافت نمودن به وجود می‌آید. به این ترتیب کاهش تعداد دفعات دریافت شوک که معمولاً با کاهش دفعات آب خوردن همراه است، به معنای افزایش میزان اضطراب و افزایش تعداد دریافت شوک و افزایش دفعات آب خوردن، به معنای کاهش میزان اضطراب در نظر گرفته شد.^۸ بعد از جراحی و کاشتن کانول راهنما در هسته‌ی لوکوس سرولوئوس حیوانات به مدت دو هفته تحت نظر قرار گرفتند تا بهبودی حاصل شود. بعد از این مدت آزمون‌های پیش‌آزمایشی انجام شد. به این ترتیب که هر حیوان به مدت ۳۶ ساعت تشنه نگه داشته شد و بعد از این مدت در اتاقک‌ها قرار گرفت تا محل آب را شناسایی کند. در این مرحله هر بار که حیوان به سمت آب رفت، قبل از سیراب شدن در اتاقک مجاور بدون آب قرار داده شد. لازم به ذکر است که این عمل برای همه‌ی گروه‌ها انجام شد. بعد از یک هفته مرحله‌ی دوم آزمون پیش‌آزمایشی نیز انجام شد. به این ترتیب که مجدداً بعد از ۳۶ ساعت تشنگی حیوان در دستگاه قرار داده شد و

بیانگر افزایش اضطراب در گروه دریافت‌کننده‌ی یوهمبین+اکسی‌توسین می‌باشد.

بحث

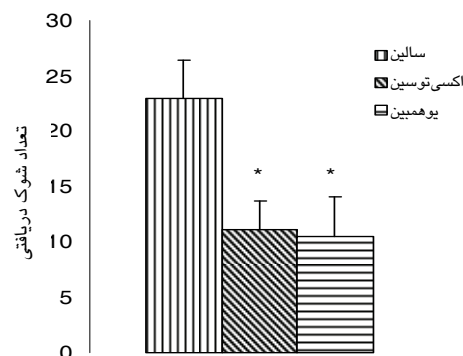
همان‌طور که نتایج این مطالعه نشان داد تزریق اکسی‌توسین به میزان $2\text{ng}/\mu\text{L}$ در هسته‌ی لوکوس سرولئوس، تعداد شوک دریافتی را کاهش داد و باعث افزایش اضطراب در موش‌های صحرایی نر گردید. همچنین تزریق یوهمبین به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنژیک در هسته‌ی لوکوس سرولئوس با کاهش دریافت تعداد شوک باعث افزایش اضطراب شد. اثر اضطراب‌زایی اکسی‌توسین در حضور یوهمبین نیز افزایش یافت.

در رابطه با اثر اضطراب‌زایی اکسی‌توسین که در این مطالعه مشاهده شد، شواهد زیادی وجود دارد که می‌تواند تأییدکننده‌ی این نتیجه باشد. این شواهد همگی حاکی از نقش تحریکی این هورمون در ترشح هورمون‌های مرتبط با استرس می‌باشد. برای مثال گراسمن و همکاران نشان دادند که اکسی‌توسین اثر تحریکی بر ترشح ACTH در جوندگان و بر عکس اثر مهارى در انسان‌ها دارد.^۹

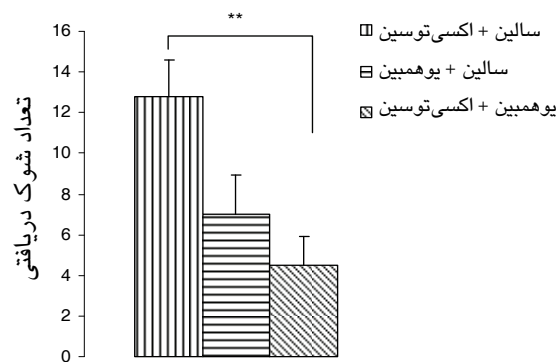
همچنین لینک و همکاران مشاهده کردند که اکسی‌توسین سبب تحریک ترشح ACTH در رت‌های ماده می‌شود^{۱۰} و نیز مویر و همکاران گزارش دادند که تزریق درون صفاقی اکسی‌توسین میزان غلظت کورتیکوسترون پایه، اما نه در شرایط مقابله با استرس، را افزایش می‌دهد.^{۱۱} بر عکس گیبس و همکاران نشان دادند که اکسی‌توسین در رت نر اثر تحریکی بر ترشح ACTH در شرایط افزایش اضطراب اما نه در شرایط پایه داشته و این امر وابسته به نوع استرسور است.^{۱۲}

نیومن و همکاران گزارش دادند که اکسی‌توسین در تنظیم محور هیپوتالاموس - هیپوفیز- آدرنال نقش دارد که این اثر به جایگاه تزریق اکسی‌توسین و نوع استرسوری که حیوان در مواجهه با آن قرار می‌گیرد وابسته است. صرف‌نظر از کیفیت و شدت استرسور تزریق داخل بطنی اکسی‌توسین نیز سبب افزایش غلظت کورتیکوسترون و ACTH در پاسخ به استرسور هیجانی - فیزیکی شنای اجباری شده که بر عمل اضطراب‌زایی آن دلالت دارد.^{۱۳}

برخلاف گزارش‌های فوق پیترسون و همکاران نشان دادند که تزریق زیرپوستی اکسی‌توسین به مدت ۵ روز سبب



نمودار ۱- اثر تزریق اکسی‌توسین و یوهمبین در هسته‌ی لوکوس سرولئوس در مقایسه با گروه سالین بر تعداد شوک دریافتی در آزمون وگل: گروه اکسی‌توسین و نیز گروه یوهمبین با گروه سالین با $P < 0.05$ * اختلاف معنی‌دار دارند. ستون‌ها میانگین \pm انحراف معیار را نشان می‌دهد.



نمودار ۲- مقایسه‌ی اثر تزریق یوهمبین+ اکسی‌توسین با دو گروه شاهد سالین+ اکسی‌توسین و سالین+ یوهمبین در هسته‌ی لوکوس سرولئوس بر تعداد شوک دریافتی در آزمون وگل: گروه یوهمبین+ اکسی‌توسین با گروه سالین+ اکسی‌توسین با $P < 0.01$ ** اختلاف معنی‌دار دارد. ستون‌ها میانگین \pm انحراف معیار را نشان می‌دهند.

مقایسه‌ی اثر تزریق یوهمبین+ اکسی‌توسین با سالین+اکسی‌توسین و سالین+یوهمبین در هسته‌ی لوکوس سرولئوس بر شوک دریافتی در دستگاه تعارض وگل: در نمودار ۲ سه گروه دریافت‌کننده‌ی سالین + اکسی‌توسین و سالین+یوهمبین با یوهمبین+ اکسی‌توسین از نظر تعداد شوک دریافتی مقایسه شدند. نتایج آنالیز آماری نشان داد بین دو گروه سالین+ اکسی‌توسین و یوهمبین+ اکسی‌توسین با $P < 0.01$ اختلاف معنی‌دار وجود دارد که

کاهش کورتیکوسترون و ACTH می‌شود.^{۱۴} ضمناً ویندل و همکاران گزارش دادند که تزریق مزمن اکسی‌توسین به درون بطن‌های جانبی رت‌های ماده، واکنش کورتیکوسترونی به محرک‌های صوتی را کاهش می‌دهد و رفتارهای مرتبط با اضطراب را در حیوانات تخفیف می‌دهد.^{۱۵}

با توجه به نتایج فوق، به نظر می‌رسد تزریق حاد و مزمن اکسی‌توسین اثر کاملاً متفاوتی را می‌تواند ایجاد کند. نتایج این مطالعه متناسب با نتایج مطالعه‌هایی است که نشان داده‌اند تزریق اکسی‌توسین حاد باعث افزایش استرس و اضطراب می‌شود و می‌توان احتمال داد که اکسی‌توسین با افزایش هورمون‌های مرتبط با استرس عمل خود را انجام می‌دهد.

گزارش‌های دیگری وجود دارد که نشان داده‌اند تزریق حاد اکسی‌توسین نوروهای سمپاتیک نخاع را تحریک می‌کند. تزریق اکسی‌توسین در ناحیه‌ی سینه‌ای نخاع در رت ضربان قلب را افزایش داده و اکسی‌توسین تزریق شده در ناحیه‌ی کمری، افزایش فشار خون را القا می‌کند.^{۱۶} با توجه به این‌که در این مطالعه اکسی‌توسین به هسته‌ی لوکوس سرولئوس تزریق شد و این هسته ارتباط نزدیک با سیستم سمپاتیک، نخاع و تشکیلات مشبک دارد، به نظر می‌رسد نقش اضطراب‌زایی اکسی‌توسین احتمالاً می‌تواند ناشی از فعال شدن سیستم سمپاتیک یا سایر مراکز مرتبط با هسته‌ی لوکوس سرولئوس در موش صحرایی باشد.^۲

شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد اکسی‌توسین اثری کاملاً متفاوت در انسان نسبت به جوندگان دارد. برای مثال گزارش شده است که اکسی‌توسین در انسان برخلاف رت پاسخ آدرنوکورتیکوتروپینی به CRF را مهار می‌کند. همچنین طی دوره‌ی شیردهی میزان ACTH کاهش می‌یابد که ارتباط معکوسی با پیک اکسی‌توسینی دارد. علاوه بر این افزایش mRNA مربوط به CRF ناشی از استرس طی دوره شیردهی کاهش می‌یابد. بنا بر این اکسی‌توسین می‌تواند از طریق تغییر در ACTH و CRF و کورتکس آدرنال در پاسخ استرسی انسان نقش داشته باشد.^{۱۴} نشان داده شده که اثر اکسی‌توسین بر پدیده‌ی اضطراب وابسته به میزان داروی تزریقی، جایگاه تزریق، نوع استرس، آزمون اضطراب‌سنجی و سن حیوان می‌باشد.^{۱۳،۱۷}

نتایج حاصل از برخی مطالعه‌ها حاکی از عدم تأثیر اکسی‌توسین بر هورمون‌های استرسی است که این امر وابسته به اعمال یا عدم اعمال استرس است. در این رابطه

برخی مطالعه‌ها نشان داده‌اند که تزریق اکسی‌توسین در شرایط بدون استرس، اثری بر غلظت کورتیکوسترون به عنوان هورمون استرس ندارد اما قرار گرفتن در معرض محرک هیجانی، ترشح اکسی‌توسین محیطی و درون هیپوتالاموسی را باعث می‌شود و با ترشح اکسی‌توسین در شرایط فیزیولوژیکی متفاوت است. بنا بر این مسیر تنظیم ترشح اکسی‌توسین در شرایط پایه و استرس متفاوت است.^{۱۸-۲۲}

همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق یوهمبین به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک در هسته‌ی لوکوس سرولئوس باعث افزایش اضطراب می‌گردد که این نتیجه با نتایج حاصل از مطالعه‌هایی که نشان دادند تزریق یوهمبین به واسطه‌ی افزایش آزادسازی نورآدرنالین و سروتونین در ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ، سبب اضطراب می‌شود مطابقت دارد. احتمالاً یوهمبین در پیش‌سیناپس به وسیله‌ی مکانیسم فیدبک منفی در اتورسپتورهای آلفا-۲ آدرنرژیک باعث افزایش نوراپی نفرین می‌شود.^{۲۴،۲۵} همچنین نشان داده شده است که افزایش فعالیت آدرنرژیک با استرس و اضطراب رابطه دارد و یوهمبین باعث افزایش چشمگیری در تپوهای ریوی، فشار سیستولی و دیاستولی می‌شود و در سطح مغز باعث افزایش نوراپی نفرین می‌شود.^{۲۱،۲۶}

برخی مطالعه‌ها نشان داده‌اند که یوهمبین اثر افزایشی چشمگیری در میزان اضطراب، نشانه‌های اتونومیک و فشار خون در افراد سالم دارد و کلونیدین به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنرژیک این تأثیر را خنثی می‌کند. این یافته‌ها نشان می‌دهند که افزایش فعالیت نورآدرنرژیک ممکن است در تولید نشانه‌های اضطراب نقش داشته باشد. محققان دیگری بین افزایش عمل نورونی نورآدرنرژیک و میزان اضطراب در انسان را نیز رابطه نشان داده‌اند.^{۲۳،۲۷}

به این ترتیب مطالعه‌های فوق تأیید کننده‌ی نتیجه حاصل از این مطالعه می‌باشد که در آن نشان داده شد تزریق یوهمبین در هسته‌ی لوکوس سرولئوس (که مخزن سیستم نورآدرنرژیک می‌باشد) اثر اضطراب‌زایی دارد.

مطالعه‌ی حاضر همچنین نشان داد که تزریق هم‌زمان دو ماده‌ی مذکور، سبب افزایش بیشتر اضطراب در جنس نر در مواجهه با استرسور هیجانی می‌شود. این نتیجه مؤید گزارش‌هایی است که بیان می‌کنند تزریق حاد مرکزی اکسی‌توسین، پاسخ‌های ایجاد شده توسط آدرنورسپتورها را تغییر می‌دهد و قادر به خنثی کردن اثر ایجاد شده توسط

آرامش رفتاری ایجاد شده توسط کلونیدین تقویت شده، پاسخ گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک لوکوس سرولوئوس در رت‌های پیش تیمار شده با اکسی‌توسین افزایش می‌یابد.^{۲۸} پس می‌توان نتیجه گرفت تزریق حاد و مزمن اکسی‌توسین به طور متفاوت بر گیرنده‌های آلفا-۲ اثر می‌گذارد.

در نتیجه‌گیری نهایی می‌توان پیشنهاد کرد که بخشی از پدیده‌ی اضطراب به واسطه‌ی فعالیت گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک و گیرنده‌های اکسی‌توسین در هسته‌ی لوکوس سرولوئوس سازماندهی شده و به نظر می‌رسد گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک موجود در هسته‌ی لوکوس سرولوئوس نقش تعدیلی بر پدیده‌ی اضطراب و خاصیت اضطراب‌زایی اکسی‌توسین داشته، با بلوک گیرنده‌ی مذکور توسط آنتاگونیست‌ها، این اثر حذف شده و نقش تقویتی بر عمل اضطراب‌زایی اکسی‌توسین اعمال می‌کنند.

آن‌ها می‌باشد.^{۵۶} در همین راستا دیاز و همکاران گزارش دادند که تزریق مرکزی اکسی‌توسین به هسته‌ی مسیر منزوی، اثر کلونیدین را خنثی می‌کند، بدین ترتیب به نظر می‌رسد رابطه‌ی آنتاگونیستی بین آدرنورسپتورها و اکسی‌توسین موجود باشد.^۵

در سایر پارامترهای فیزیولوژیک این امر نیز مشاهده شده است. نشان داده شده ه اکسی‌توسینی که به طور مرکزی تزریق می‌شود، قادر به خنثی کردن اثر تغذیه‌ای و قلبی - عروقی ایجاد شده توسط کلونیدین به عنوان آگونیست گیرنده‌های آلفا-۲ می‌باشد. در راستای این یافته‌ها، اکسی‌توسین در بخش‌هایی از مغز، ویژگی‌های اتصال آلفا-۲ آدرنورسپتورها را در هیپوتالاموس، آمیگدال و هسته‌های مسیر منزوی تغییر می‌دهد که اثر اصلی آن، کاهش تمایل گیرنده‌های مذکور می‌باشد.^{۲۵،۶۵}

برخلاف گزارش‌های فوق، مشاهده شده است که در رت‌های پیش تیمار شده با تزریق مزمن اکسی‌توسین،

References

- Gimpl G, Fahrenholz F. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiol Rev* 2001; 81: 629-83.
- Pacak K, Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocr Rev*. 2001; 22: 502-48.
- Petersson M, Uvnas-Moberg K, Erhardt S, Engberg G. Oxytocin increases locus coeruleus alpha 2-adrenoreceptor responsiveness in rats. *Neurosci Lett* 1998; 255: 115-8.
- Petersson M, Lundberg T, Uvnas-Moberg K. Oxytocin enhances the effects of clonidine on blood pressure and locomotor activity in rats. *J Auton Nerv Syst* 1999; 78: 49-56.
- Diaz-Cabiale Z, Narvaez JA, Garrido R, Petersson M, Uvnas-Moberg K, Fuxe K. Antagonistic oxytocin/alpha2-adrenoreceptor interactions in the nucleus tractus solitarius: relevance for central cardiovascular control. *J Neuroendocrinol* 2000; 12:1167-73.
- Diaz-Cabiale Z, Narvaez JA, Petersson M, Uvnas-Moberg K, Fuxe K. Oxytocin/alpha(2)-adrenoceptor interactions in feeding responses, *Neuroendocrinology* 2000; 71:209-18.
- Mantella RC, Vollmer RP, Li X, Amico JA. Female oxytocin-deficient mice display enhanced anxiety-related behavior. *Endocrinology* 2003;14:2291-6.
- وکیلی عجب بی‌بی، بررسی دخالت گیرنده های آلفا-۲ آدرنرژیک در اضطراب در حضور و عدم حضور غدد جنسی در موش صحرایی نر بالغ، پایان نامه کارشناسی ارشد، اهواز: دانشگاه شهید چمران اهواز، ۱۳۷۹.
- Grossman A, Tsagarakis S. The hunt for the CIA: factors which demonstrate corticotrophin-inhibitory activity. *J Endocrinol* 1989; 123: 169-72.
- Link H, Dayanithi G, Gratzl M. Glucocorticoids rapidly inhibit oxytocin-stimulated adrenocorticotropin release from rat anterior pituitary cells, without modifying intracellular calcium transients. *Endocrinology* 1993; 132: 873-8.
- Muir JL, Brown R, Pfister HP. A possible role for oxytocin in the response to a psychological stressor. *Pharmacol Biochem Behav* 1986; 25: 107-10.
- Gibbs DM. Immunoneutralization of oxytocin attenuates stress-induced corticotropin secretion in the rat. *Regul Pept* 1985; 12: 273-7.
- Neumann ID, Kromer SA, Toschi N, Ebner K. Brain oxytocin inhibits the (re)activity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in male rats: involvement of hypothalamic and limbic brain regions. *Regul Pept* 2000; 96: 31-8.
- Petersson M, Hulting AL, Uvnas-Moberg K. Oxytocin causes a sustained decrease in plasma levels of corticosterone in rats. *Neurosci Lett* 1999; 264: 41-4.
- Windle RJ, Shanks N, Lightman SL, Ingram CD. Central oxytocin administration reduces stress-induced corticosterone release and anxiety behavior in rats. *Endocrinology* 1997; 138: 2829-34.
- Maier T, Dai WJ, Csikos T, Jirikowski GF, Unger T, Culman J. Oxytocin pathways mediate the

- cardiovascular and behavioral responses to substance P in the rat brain. *Hypertension* 1998; 31: 480-6.
17. Ishunina TA, Swaab DF. Vasopressin and oxytocin neurons of the human supraoptic and paraventricular nucleus: size changes in relation to age and sex. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4637-44.
 18. Neumann ID, Johnstone HA, Hatzinger M, Liebsch G, Shipston M, Russell JA, et al. Attenuated neuroendocrine responses to emotional and physical stressors in pregnant rats involve adenohipophysial changes. *J Physiol* 1998; 508: 289-300.
 19. Engelmann M, Ebner K, Landgraf R, Holsboer F, Wotjak I CT. Emotional stress triggers intrahypothalamic but not peripheral release of oxytocin in male rats. *J Neuroendocrinol* 1999; 11: 867-72.
 20. Bosch OJ, Meddle SL, Beiderbeck DI, Douglas AJ, Neumann ID. Brain oxytocin correlates with maternal aggression: link to anxiety. *J Neurosci* 2005; 25: 6807-15.
 21. Marazziti D, Dell'osso B, Baroni S, Mungai F, Catena M, Rucci P, et al. A relationship between oxytocin and anxiety of romantic attachment. *Clin Pract Epidemiol Ment Health* 2006; 2: 28.
 22. Kirsch P, Esslinger C, Chen Q, Mier D, Lis S, Siddhanti S, et al. Oxytocin modulates neural circuitry for social cognition and fear in humans. *J Neurosci* 2005; 25: 11489-93.
 23. Broderick PA. Alprazolam, diazepam, yohimbine, clonidine: in vivo CA1 hippocampal norepinephrine and serotonin release profiles under chloral hydrate anesthesia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1997; 21: 1117-40.
 24. Cameron OG, Zubieta JK, Grunhaus L, Minoshima S. Effects of yohimbine on cerebral blood flow, symptoms, and physiological functions in humans. *Psychosom Med* 2000; 62: 549-59.
 25. Bremner JD, Krystal JH, Southwick SM, Charney DS. Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: II. Clinical studies. *Synapse*. 1996; 23: 39-51.
 26. Meltzer HY, Simonovic M, Gudelsky GA. Effect of yohimbine on rat prolactin secretion. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 224: 21-7.
 27. Sallee FR, Sethuraman G, Sine L, Liu H. Yohimbine challenge in children with anxiety disorders. *Am J Psychiatry* 2000; 157: 1236-42.
 28. Diaz-Cabiale Z, Petersson M, Narvaez JA, Uvnas-Moberg K, Fuxe K. Systemic oxytocin treatment modulates alpha 2-adrenoceptors in telencephalic and diencephalic regions of the rat. *Brain Res* 2000; 887: 421-5.

Original Article

Study on the effect of oxytocin in locus coeruleus on anxiety induced vogel's test in presence and absence of yohimbine in male rat

Zalkhani S¹, Kesmati M¹, Zangene F², Rasekh A¹

¹Department of Biology, Shaheed Chamran University, Ahvaz, I.R.Iran.

²Department of Physiology, Jundi Shapur Medical Sciences University, Ahvaz, I.R.Iran.
e-mail: mahnazkesmati@yahoo.com

Abstract

Introduction: Locus coeruleus (LC) nucleus modulates certain physiological behaviors such as pain, anxiety, awake, sleep, memory and learning. Some studies have shown that the LC nucleus has both adrenergic neurons and α_2 -adrenoceptors, and also receives oxytocinergic projections from the paraventricular nucleus of the hypothalamus. The effect and mechanism of this neuropeptide is not fully understood. Considering that the chronic usage of oxytocin decreases anxiety, in the present study the effect of acute administration of oxytocin in the locus coeruleus and its interaction with α_2 adrenoceptors on anxiety induced vogel's test in male adult rats were investigated. **Materials and Methods:** Male adult wistar rats weighing 285 ± 15 grams were divided into 6 groups: 1) Receiving saline, 2) oxytocin ($2 \text{ ng}/2 \mu\text{l}$), 3) yohimbine ($3.3 \mu\text{g}/2 \mu\text{l}$), 4) receiving saline + yohimbine, 5) saline+ oxytocin and 6) yohimbine+oxytocin in locus coeruleus nucleus. Number of received shocks during water drinking was evaluated as an anxiety behavior for 15 minutes in Vogel's test. **Results:** Oxytocin reduced number of shocks received (Anxiogenic effect). Blocking of α_2 adrenoceptors by yohimbine decreased number of shocks received. Anxiogenic effect of oxytocin increased in presence of yohimbine. **Conclusion:** It seems that the LC α_2 -adrenoceptors modulate anxiety and the anxiogenic effect of oxytocin and this effect can be eliminated by the blocking of the α_2 -adrenoceptors.

Keywords: Oxytocin, Yohimbine, Locus coeruleus, Anxiety, Vogel's test