

# نقش سیستم سروتونرژیک در رفتار شبه اضطرابی موش صحرایی نر با استرس بی حرکتی

\*راضیه بایراملو (MSc)<sup>۱</sup> - دکتر مهدی محمدزاده (MD)<sup>۲</sup> - دکتر فرین بابائی (MD)<sup>۳</sup>

\*نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

پست الکترونیک: rbayramloo@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۹۵/۰۹/۱۳ تاریخ ارسال: ۹۶/۰۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۲/۳۱

## چکیده

**مقدمه:** اختلال اضطراب از مشکلات عمده بشری است که بیشتر از نبود تعادل در فعالیت سیستم‌های، مونوآمینرژیک مغز نشأت می‌گیرد. شواهد بالینی نشان‌دهنده‌ی احتمال اختلال نوروهای سروتونرژیک در پاتوفیزیولوژی اضطراب است، بنابراین، در این مطالعه از داروهای فلوکستین و سیپروهیتادین به عنوان تغییر دهنده‌های مقادیر سروتونین در مغز برای ارزیابی نقش سیستم سروتونرژیک در بروز یا تعدیل اختلال شبه‌اضرابی استفاده شد.

**هدف:** نقش سیستم سروتونرژیک در تغییر رفتار شبه‌اضرابی و تغییر متابولیک هورمون‌های تیروئیدی در موش صحرایی نر با استرس بی حرکتی.

**مواد و روش‌ها:** ۳۰ رأس موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی  $180 \pm 20$  گرم به طور تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. القای استرس بی حرکتی در موش‌ها با کمک محدودکننده‌ی پلی‌اتیلنی و بررسی اثر ضداضرابی داروها در گروه‌های تحت تیمار با تست ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع انجام شد. در این مطالعه داروی فلوکستین با غلظت ۲۰ mg/kg و داروی سیپروهیتادین با غلظت ۴ mg/kg به صورت داخل‌صفاقی به حیوانات تجویز شد. در پایان دوره‌ی تیمار اثر داروها بر رفتار اضطرابی ناشی از القای استرس بی حرکتی و میزان سرمی هورمون‌های تیروئیدی با استفاده از کیت الایزا سنجیده شد. برای واکاوی داده‌ها از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری  $p \leq 0.05$  استفاده شد.

**نتایج:** درصد زمان سپری شدن در بازوی باز در گروه تحت استرس به طور معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت ( $p < 0.001$ ). از سویی تجویز فلوکستین یا سیپروهیتادین به حیوانات تحت استرس بی حرکتی منجر به کاهش این شاخص در مقایسه با گروه کنترل شد ( $p < 0.001$ ). همچنین استرس بی حرکتی غلظت سرمی T3 و T4 را در جانوران تحت استرس در مقایسه با جانوران کنترل افزایش داد ( $p < 0.001$ ) درحالی که تجویز داروهای نامبرده این شاخص‌ها را تا حدودی به اندازه گروه کنترل بازگرداند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان دهنده‌ی اثر بهبود بخش سیستم سروتونرژیک در کنترل رفتار شبه‌اضرابی و ترشح هورمون‌های تیروئیدی بود.

**کلید واژه‌ها:** اضطراب، تنش، سیپروهیتادین، فلوکستین، موش‌های صحرایی

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و شش، شماره ۱۰۲، صفحات: ۱۱-۱۹

## مقدمه

بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژی از جمله مکانیسم‌های اضطراب، فکر، اشتها، رفتار جنسی، چرخه خواب و بیداری و حرکت دودی روده تأثیر می‌گذارد (۲). کاهش میزان سروتونین موجود در مغز در بیماران دچار آلزایمر، منجر به بروز فراموشی، اختلال در فرایند یادگیری و پیری می‌شود (۳). همچنین، گزارش‌های اخیر حاکی از آن است که سروتونین در ارتباط با طیف گسترده‌ای از رفتارها از جمله هماهنگی تغذیه و وزن بدن، خودکشی، اختلال وسواس اجباری و اضطراب است (۴). نتایج بررسی‌های Fassat و همکاران نشان داد سروتونین و دوپامین در پاسخ‌های ترس و اضطراب پستانداران نقش دارند (۵). از سوی دیگر شواهد بالینی و پیش‌بالینی گسترده نشان دهنده‌ی اختلال نوروهای

بیشتر پژوهشگران بر این باورند که با وجود شناسایی نشدن مکانیسمی شناخته شده برای افسردگی تا به حال، افسردگی به دنبال کاهش تعدادی از نوروترانسمیترهای اصلی در مغز مانند سروتونین و دوپامین ایجاد می‌شود. بنابراین، داروهای موثر در افزایش میزان نوروترانسمیترها می‌توانند در درمان افسردگی نقش داشته باشند (۱). سروتونین یا ۵-HT هیدروکسی‌تریپتامین (5HT) نوروترانسمیتری منوآمین است که اثر خود را بر کارکرد دستگاه عصبی مرکزی، سیستم‌های قلبی-عروقی، کلیوی، ایمنی و گوارشی اعمال می‌کند؛ به طوری که هر نوع اختلال در سنتز، متابولیسم یا بازجذب آن، منجر به بروز نشانه‌های بیماری‌هایی مانند اسکیزوفرنی، افسردگی، وسواس اجباری و اختلال در یادگیری می‌شود و بر

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

در موش‌های صحرایی نر ارزیابی شد. با توجه به نتایج پژوهش‌ها، اختلال‌های اضطرابی با تاثیرگذاری بر عملکرد سیستم اندوکروینی منجر به تغییر از جمله در میزان ترشح هورمون‌های متابولیکی مانند  $T_3$  و  $T_4$  می‌شود و از سوی دیگر عموماً در بیماران دچار پرکاری تیروئید رفتارهای اضطرابی دیده می‌شود (۱۱)، از این رو، در پژوهش حاضر نقش مسیر سروتونرژیک در اثر احتمالی فلوکستین بر تغییر غلظت هورمون‌های محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید (HPT) نیز بررسی شده که با توجه به منابع ارزشمند در دسترس، تاکنون پژوهشی در این مورد انجام نشده است.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی  $20 \pm 180$  گرم، تهیه شده از خانه حیوانات گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه استفاده شد. ۳۰ رأس موش نر جداگانه به تعداد ۶ رأس در هر قفس بزرگ در شرایط کنترل شده با دمای  $25 \pm 2^\circ C$ ، رطوبت  $2 \pm 38$  درصد، شدت نور در مرکز اتاق  $300$  لوکس و دوره‌های متوالی ۱۲ ساعته نور و تاریکی نگهداری شدند. آب و غذای استاندارد (کنسانتره) به اندازه کافی در اختیار حیوانات نهاده شد و هر سه روز یک بار قفس موش‌ها تمیز می‌شد. در این آزمایش فلوکستین ( $20 \text{ mg/kg}$ ) و سیپروهپتادین ( $4 \text{ mg/kg}$ )، محلول در آب مقطر برپایه غلظت‌های معین مطرح در مقالات معتبر استفاده شد. موش‌های صحرایی نر به طور تصادفی به ۵ گروه کنترل، بیمار، بیمار دریافت‌کننده فلوکستین، بیمار دریافت‌کننده سیپروهپتادین و بیمار دریافت‌کننده همزمان داروهای فلوکستین و سیپروهپتادین بخش شدند. القای استرس بی‌حرکتی در موش‌ها با دستگاه محدودکننده (Restrainer) پلی‌اتیلنی در ساعت مشخصی از روز به مدت ۲ ساعت در مدت ۱۴ روز انجام شد (۱۲). پس از پایان القای استرس بی‌حرکتی، موش‌های صحرایی به قفس‌های خود برگردانده می‌شدند. ۳۰ دقیقه بعد از اعمال استرس بی‌حرکتی هر یک از حیوانات گروه کنترل و بیمار  $0.2 \text{ ml}$  آب مقطر، گروه بیمار تیمار شده با فلوکستین  $20 \text{ mg/kg}$ ، گروه بیمار تیمار شده با سیپروهپتادین  $4 \text{ mg/kg}$

سروتونرژیک در پاتوفیزیولوژی اضطراب و افسردگی است (۶). اضطراب از شایع‌ترین اختلال‌های روانی در جامعه بشری است که با بهبود اوضاع اقتصادی-اجتماعی کاهش می‌یابد. این اختلال ممکن است از نوع اولیه یا ثانویه باشد که در پی بیماری‌های جسمی یا روانی دیگر به ویژه افسردگی شکل می‌گیرد. به راستی هر نوع اضطراب یک اختلال یا بیماری تلقی می‌شود و دربرگیرنده اضطراب عمومی، اضطراب اجتماعی، اختلال اضطرابی خاص، اختلال وسواس-اجبار، اختلال استرس پس از سانحه و اختلال ترس یا هراس است (۷). بسیاری از داروهای ضدافسردگی با افزایش میزان سروتونین در سیناپس‌ها در جهت کاهش اختلال اضطرابی و افسردگی عمل می‌کنند. از این داروها، فلوکستین از دسته دارویی مهارکننده‌های انتخابی بازجذب سروتونین (SSRIs) است که با مهار بازبرداشت سروتونین در پایانه‌های عصبی سبب نیروبخشی عمل این آمین در دستگاه عصبی مرکزی می‌شود (۸). در چند سال گذشته، در شناسایی و اکتشاف چند گروه از ترکیب‌های ساخته شده با عملکردهای ویژه بر جنبه‌های مختلفی از کارکرد سروتونین پیشرفت حاصل شده است. این رویکرد به بهبود درمان گسترده‌ای از اختلال اضطرابی و افسردگی انجامیده است. شواهد نشان می‌دهند گیرنده‌های  $5HT_{1A}$  در اضطراب مهم هستند و در الگوهای جانوری زدودن کامل  $5HT_{1A}$  منجر به افزایش پاسخ‌های اضطرابی و استرس می‌شود (۹). از سوی دیگر، نتایج مطالعات کپلن و همکاران نشان داد مهارکننده‌های انتخابی بازجذب سروتونین (SSRIs) و ضدافسردگی‌های سه‌حلقه‌ای (TCAs) در ارتباط با اضطراب، سبب فعال شدن گیرنده‌های پس‌سیناپسی  $5HT_{1A}$  در قشر مغز و سیستم لیمبیک می‌شوند (۱۰). داروی سیپروهپتادین با نام تجاری پریاکتین (Periactin) از داروهای مؤثر بر سیستم سروتونرژیک است، از این رو در این مطالعه پنداشت این است که شاید فلوکستین اثر ضد اضطرابی خود را با میانجی‌گری گیرنده‌های سروتونینی اعمال می‌کند و سیپروهپتادین به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های سروتونینی بازدارنده اثر احتمالی فلوکستین باشد. بنابراین در بررسی ما اثر همزمان فلوکستین و سیپروهپتادین بر رفتار شبه‌اضطرابی

درصد ماندن در بازوی باز = زمان ماندن در بازوی باز تقسیم بر زمان ماندن در بازوهای باز و بسته  $100 \times$  افزایش معنی دار این دو متغیر نشان دهنده کاهش رفتار اضطرابی در موش های تحت تیمار است (۱۵).

سنجش هورمون های تیروئیدی  $T_3$  و  $T_4$ : پس از پایان بررسی رفتار اضطرابی در گروه های تحت تیمار، حیوانات را وزن کرده و از قلب هر موش پس از بی هوش کردن با اتر، به حجم نزدیک ۵ میلی لیتر خون گیری انجام شد. سپس، خون ها در لوله های آزمایش استریل شده ژل دار که بدون ماده ضد انعقاد بود گردآوری و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. بعد از وقوع انعقاد، نمونه های خونی جمع آوری شده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، سرم هر نمونه از لخته جدا شد و تا زمان سنجش هورمونی در دمای  $20-25$  درجه سانتی گراد برای اندازه گیری غلظت سرمی هورمون های تری یدوتیرونین ( $T_3$ ) و تیروکسین ( $T_4$ ) نگهداری شد. اندازه گیری هورمونی براساس دستور کار کیت الیزا انجام شد (۱۶).

واکوی آماری: نتایج با نسخه ۲۲ نرم افزار SPSS و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey) با ضریب اطمینان ( $p \leq 0.05$ ) انجام شد. داده ها بر حسب میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش و سطح معنی داری نیز کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته و نمودارها با نرم افزار Excell ترسیم شد.

سیپروهپتادین گروه بیمار تحت تیمار با فلوکستین و سیپروهپتادین به فاصله ۱۵ دقیقه ابتدا  $4 \text{ mg/kg}$  سیپروهپتادین و سپس  $20 \text{ mg/kg}$  فلوکستین به صورت داخل صفاقی دریافت می کردند (۱۴-۱۳).

بررسی رفتار اضطرابی: برای سنجش و ارزیابی رفتار اضطرابی موش ها از دستگاه ماز بعلاوه ای شکل مرتفع چوبی با چهار بازو به شکل علامت بعلاوه (+) استفاده شد. ابعاد بازوهای باز و بسته در ماز  $40 \times 7$  سانتی متر بود که در دو طرف و انتهای بازوهای بسته دیواره هایی به بلندی ۱۰ سانتی متر داشت که با پایه هایی در ارتفاع  $40$  سانتی متر از سطح زمین قرار گرفته بودند. نخست موش ها درون محدوده مرکزی، رو به یک بازوی باز قرار می گرفتند. در مدت پنج دقیقه ای که حیوان آزادانه در قسمت های مختلف ماز حرکت می کرد، چهار متغیر با کمک دوربین گذاشته شده در بالای دستگاه ماز که در بردارنده موارد زیر بود: دفعاتی که حیوان وارد بازوی باز می شد، دفعاتی که حیوان وارد بازوی بسته می شد، مدتی که حیوان در بازوی باز می ماند و مدت که حیوان در بازوی بسته می ماند که نگارش و ارزیابی می شد. منظور از ورود حیوان به بازوی باز یا بسته قرار گرفتن هر چهار پای حیوان در بازوی دلخواه بود. مدت ماندن در هر بازو نیز بر همین پایه برآورد می شد. برای هر حیوان درصد ورود به بازوهای باز و درصد زمان ماندن در بازوهای باز به روش زیر برآورد شد:

درصد ورود به بازوی باز = تعداد ورود به بازوی باز بخش بر تعداد ورود به بازوهای باز و بسته  $100 \times$

جدول ۱. مقایسه درصد زمان سپری شدن در بازوهای باز، درصد دفعات ورود به بازوهای باز، میزان تری یدوتیرونین و تیروکسین سرم در گروه های آزمایشی..

گروه ها*	زمان سپری شدن در بازوهای باز (mean $\pm$ SD) (%)	دفعات ورود به بازوهای باز (mean $\pm$ SD) (%)	تری یدوتیرونین سرم (mg/dl) (mean $\pm$ SD)	تیروکسین سرم ( $\mu\text{g/ml}$ ) (mean $\pm$ SD)
کنترل	$54/66 \pm 13$	$46 \pm 10/17$	$1/15 \pm 0/01$	$1/20 \pm 0/03$
بیمار	$8/68 \pm 10/50$	$8/66 \pm 3/98$	$1/40 \pm 0/08$	$1/36 \pm 0/05$
فلوکستین	$20/56 \pm 45/83$	$34/66 \pm 11/14$	$1/14 \pm 0/01$	$1/18 \pm 0/05$
سیپروهپتادین	$3/43 \pm 18/83$	$14/66 \pm 2/16$	$1/16 \pm 0/04$	$1/22 \pm 0/01$
فلوکستین و سیپروهپتادین	$8/42 \pm 37/83$	$15/50 \pm 5/24$	$1/15 \pm 0/03$	$1/23 \pm 0/02$

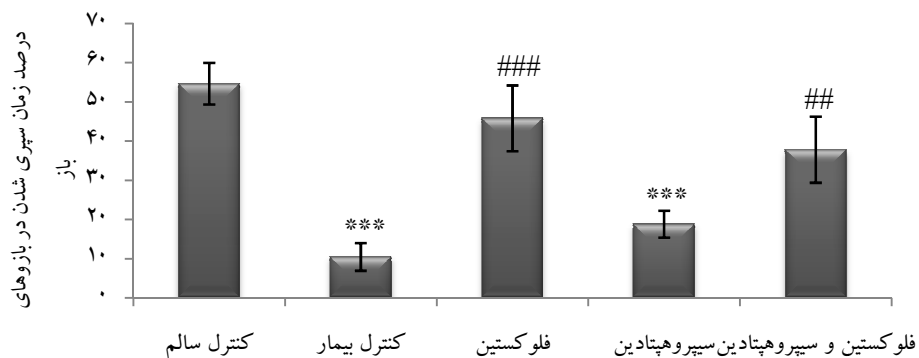
\*داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده اند.

## نتایج

اعمال استرس بی حرکتی در موش‌ها، منجر به کاهش معنی‌دار درصد دفعات ورود موش‌ها به بازوهای باز ماژ در مقایسه با گروه کنترل شد ( $p < 0/001$ )، در حالی که تیمار حیوانات تحت استرس بی حرکتی با داروی فلوکستین، تغییر معنی‌داری در این شاخص در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرد اما این متغیر را در مقایسه با گروه بیمار به طور معنی‌دار، افزایش داد (جدول ۱ و نمودار ۲) ( $p < 0/001$ ). تجویز داروی سیپروهپتادین به تنهایی یا همراه فلوکستین تغییر معنی‌داری در درصد دفعات ورود موش‌ها به بازوهای باز ماژ در مقایسه با گروه بیمار ایجاد نکرد اما در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌دار، کاهش داد ( $p < 0/001$ ). در واقع مطابق جدول (۱)، تجویز همزمان داروی سیپروهپتادین با فلوکستین به حیوانات تحت استرس بی حرکتی در مقایسه با تجویز به تنهایی فلوکستین تاثیر کمتری بر میزان درصد این شاخص در مقایسه با گروه کنترل و گروه بیمار گذاشت.

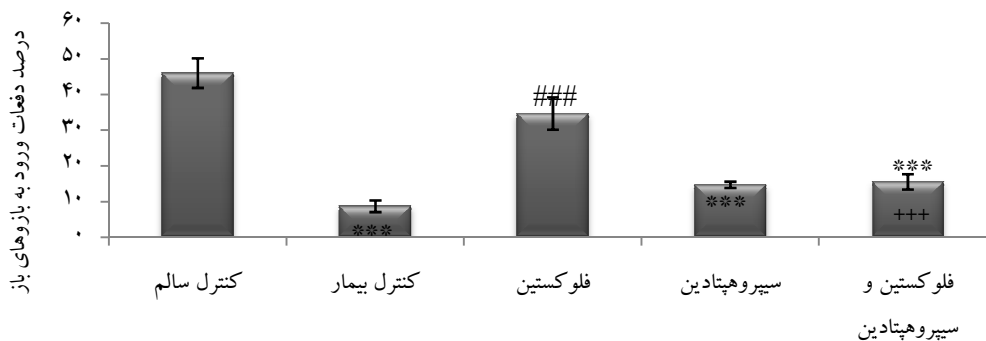
نتایج ارزیابی رفتار شبه اضطرابی: مطابق جدول (۱)، القای استرس بی حرکتی در موش‌ها، سبب کاهش درصد زمان سپری شده در بازوهای باز ماژ در مقایسه با گروه کنترل و تجویز داروی فلوکستین به حیوانات تحت استرس بی حرکتی، موجب افزایش این شاخص در مقایسه با گروه بیمار در حد معنی‌دار شد ( $p < 0/001$ ). در حالی که تیمار حیوانات تحت استرس بی حرکتی با سیپروهپتادین تغییر معنی‌داری در این شاخص مورد بررسی در مقایسه با گروه بیمار ایجاد نکرد اما منجر به کاهش معنی‌دار آن در مقایسه با گروه کنترل شد ( $p < 0/001$ ). همچنین، تجویز سیپروهپتادین همراه فلوکستین به موش‌های تحت تیمار، سبب افزایش معنی‌دار این متغیر در رفتار شبه اضطرابی در مقایسه با گروه بیمار می‌شود (جدول ۱ و نمودار ۱) ( $p < 0/001$ ).

نمودار سنجش رفتار شبه اضطرابی



نمودار ۱. مقایسه درصد زمان سپری شدن در بازوهای باز در آزمون ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع. در این نمودار علامت \*\*\*: نشان‌دهنده  $p < 0/001$  در مقایسه با گروه کنترل و علامت ## نشان‌دهنده  $p < 0/01$  و علامت #### نشان‌دهنده  $p < 0/001$  در مقایسه با گروه بیمار است.

نمودار سنجش رفتار شبه اضطرابی

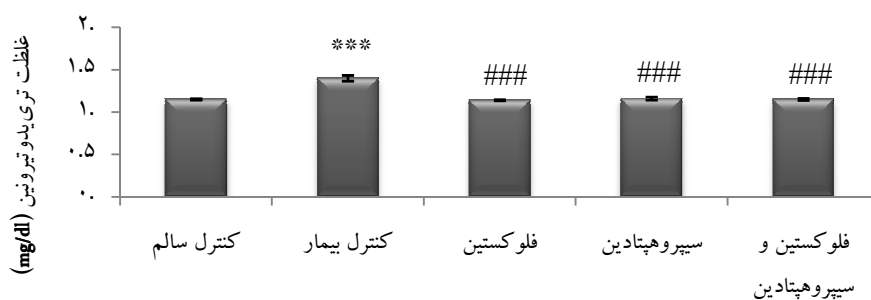


نمودار ۲. مقایسه درصد دفعات ورود به بازوهای باز در آزمون ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع. در این نمودار علامت \*\*\*: نشان‌دهنده  $p < 0/001$  در مقایسه با گروه کنترل، علامت #### نشان‌دهنده  $p < 0/001$  در مقایسه با گروه بیمار و علامت +++: نشان‌دهنده  $p < 0/001$  در مقایسه با گروه بیمار با داروی فلوکستین است.

نتایج سنجش میزان تیروکسین ( $T_4$ ): با توجه به نمودار ۴، اعمال استرس بی حرکتی در موش‌ها، به طور معنی‌دار سبب افزایش سطح تیروکسین سرم خون موش‌ها در مقایسه با گروه بیمار شد ( $p < 0.001$ ). با این وجود تیمار حیوانات تحت استرس بی حرکتی فلوکستین، سطح تیروکسین سرم را در مقایسه با گروه بیمار به طور معنی‌دار ( $p < 0.001$ )، کاهش داد و به محدوده گروه کنترل رساند. همچنین، تجویز سیپروهپتادین به تنهایی یا همراه فلوکستین در حیوانات تحت استرس بی حرکتی به طور معنی‌دار منجر به کاهش سطح تیروکسین سرم خون موش‌ها در مقایسه با گروه بیمار شد (جدول ۱) ( $p < 0.001$ ).

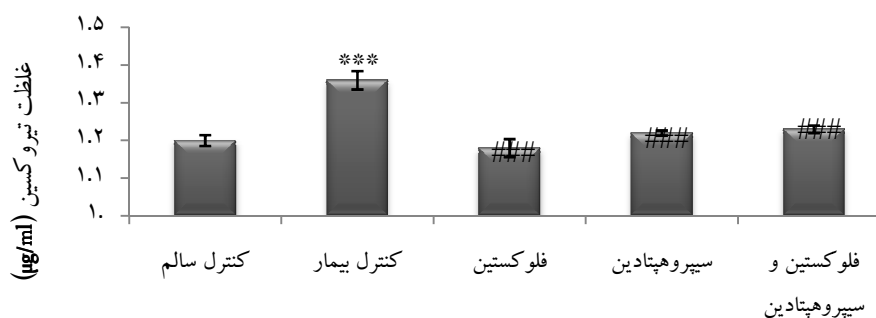
نتایج سنجش میزان تری‌یدوتیرونین ( $T_3$ ): مطابق نمودار ۳، القای استرس بی حرکتی در موش‌های تحت تیمار، سبب افزایش معنی‌دار میزان هورمون تری‌یدوتیرونین سرم در مقایسه با گروه کنترل شد ( $p < 0.001$ ). همچنین، تجویز داروی فلوکستین به حیوانات تحت استرس بی حرکتی، میزان تری‌یدوتیرونین سرم را در مقایسه با گروه بیمار به طور معنی‌دار ( $p < 0.001$ )، کاهش داد. در حالی که تیمار حیوانات تحت استرس بی حرکتی با داروی سیپروهپتادین به تنهایی یا همراه با داروی فلوکستین تغییر معنی‌داری در سطح تری‌یدوتیرونین سرم در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرد، اما سطح سرمی این هورمون را در مقایسه با گروه بیمار به طور معنی‌دار، کاهش داد (جدول ۱) ( $p < 0.001$ ).

نمودار سنجش میزان تری‌یدوتیرونین سرم



نمودار ۳. مقایسه میانگین میزان تری‌یدوتیرونین سرم در موش‌های صحرایی تحت استرس بی حرکتی. در این نمودار علامت \*\*\*: نشان‌دهنده  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل و علامت ###: نشان‌دهنده  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه بیمار است.

نمودار سنجش میزان تیروکسین سرم



نمودار ۴. مقایسه میانگین میزان تیروکسین سرم در موش‌های صحرایی تحت استرس بی حرکتی. در این نمودار علامت \*\*\*: نشان‌دهنده  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل و علامت ###: نشان‌دهنده  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه بیمار است.

## بحث و نتیجه‌گیری

سیستم سروتونرژیک در تنظیم سیستم اضطرابی موجودات زنده نقش چشمگیری دارد (۱۷). پژوهش‌ها نشان داده‌اند گیرنده‌های  $5HT_1$  در سیستم سروتونرژیک نقش عمده‌ای در

اختلال اضطراب از شایع‌ترین اختلال‌های روانی است که از تغییر در فعالیت‌های دستگاه عصبی مغزی ناشی می‌شود (۱۱).

نتایج بررسی‌ها در زمینه تغییر هورمونی سرم خون موش‌ها نشان داد القای استرس بی‌حرکتی، سبب افزایش معنی‌دار میزان هورمون‌های  $T_3$  و  $T_4$  سرم در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. در حالی که تجویز داروی فلوکستین یا سیپروهپتادین این شاخص‌ها را در مقایسه با گروه بیمار کاهش داده و به محدوده گروه کنترل نزدیک می‌کند. برخی نتایج پژوهش‌ها در ارتباط با استرس مزمن نشانگر افزایش سطح هورمون‌های  $T_3$  و  $T_4$  در سرم است (۲۴). همچنین، مطالعات بالینی پیشنهاد کرده‌اند، کم‌کاری و پرکاری غده تیروئید که از رایج‌ترین اختلال‌های محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید (HPT) به شمار می‌رود، ممکن است در پایان منجر به افسردگی و اضطراب شود (۲۵). همچنان که در مطالعه ما نیز در گروه تحت استرس، اضطراب همراه با پرکاری تیروئید دیده شد. چون افسردگی و اضطراب با کاهش فعالیت سروتونرژیک و مغز مرتبط است و با توجه به ارتباط فعالیت سروتونرژیک و محور HPT، برخی پژوهشگران براین باورند بیشتر اثرات سیستم سروتونرژیک بر تنظیم ترشح (هورمون آزادکننده تیروتروپین)، از نوع مهارتی باشد (۲۶)، که در این راستا کاهش شاخص‌های تیروئید محیطی پس از درمان با داروهای ضدافسردگی، با برخی مطالعات پیشین همخوانی دارد (۲۷). همچنین با توجه به اثر افزایش‌دهنده داروی فلوکستین بر میزان پرولاکتین سرم (۲۸)، گمان می‌رود کاهش ترشح هورمون‌های  $T_3$  و  $T_4$  در غلظت  $20\text{mg}$  داروی فلوکستین در مطالعه ما ناشی از افزایش میزان پرولاکتین باشد، زیرا دیده‌شده یکی از اثرات افزایش پرولاکتین، تاثیر بر آزادسازی TRH است که باعث کاهش ترشح TRH و در نتیجه مهار ترشح TSH (هورمون تحریک‌کننده تیروئید) و کاهش هورمون‌های تیروئیدی می‌شود (۲۹). از طرفی نیز نتیجه پژوهش حاکی از آن است که گیرنده‌های  $5HT_{1A}$  یا  $5HT_{2C}$  /  $5HT_{2A}$  در ترشح پرولاکتین دخالت دارند (۳۰). بنابراین، به گمان بسیار داروی مصرفی فلوکستین افزون بر اعمال اثرات ضداضطرابی با تحریک گیرنده‌های  $5HT_{1A}$ ، منجر به افزایش پرولاکتین و در نهایت کاهش ترشح هورمون‌های تیروئیدی شده است. در مورد داروی سیپروهپتادین گزارش‌ها حاکی از آن است که این دارو، عامل مهارکننده پرولاکتین (PIF) را

اختلال اضطراب دارند (۱۸). با توجه به این که استفاده از آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌ها در مطالعه‌ی نقش سیستم‌های سروتونرژیک در رفتار اضطرابی به آیین است، از این رو در مطالعه ما سیپروهپتادین به عنوان آنتاگونیست غیراختصاصی گیرنده‌های  $5HT_2$  بکار رفت. آنالیز داده‌های بدست آمده از تست ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع نشان داد استرس بی‌حرکتی مزمن با کاهش معنی‌دار درصد زمان سپری شدن موش‌ها در بازوهای باز ماز و درصد دفعات ورود موش‌ها به بازوهای باز ماز سبب افزایش رفتارهای شبه‌اضطرابی در موش‌های صحرائی نر می‌شود. در این راستا تحقیقات نشان داده‌اند استرس‌های درازمدت جریان سروتونین را در برخی ساختمان‌های مغزی که به دنبال استرس فعال می‌شوند مانند آمیگدال و سپتوم جانبی، کاهش می‌دهد (۱۹). در واقع سروتونین ماده‌ای است که در کاهش اضطراب نقش دارد (۲۰). بنابراین، به نظر می‌رسد کاهش میزان سروتونین در نتیجه استرس بی‌حرکتی مزمن، موجب بروز رفتار شبه‌اضطرابی شده‌باشد. از سوی دیگر تجویز داروی فلوکستین سبب بهبود رفتارهای شبه‌اضطرابی شد که حاکی از اثر اضطراب زدایی فلوکستین است، زیرا فلوکستین از راه مهار بازجذب سروتونین و در نتیجه تقویت عمل این نوروترانسمیتر اثر خود را اعمال می‌کند. در این زمینه برخی تحقیقات کلینیکی نشان داده‌اند وجود سروتونین و فعال کردن گیرنده  $5HT_{1A}$  رفتارهای ضداضطرابی و ضدافسردگی را القا می‌کنند (۲۱)؛ و از سویی نشان داده‌اند داروی فلوکستین مسئول افزایش انتقال سروتونین از راه برانگیختگی گیرنده‌های  $5HT_{1A}$  است (۲۲). روی هم رفته، این یافته‌ها اثر ضداضطرابی فلوکستین را تایید می‌کند. همچنین، مطالعات جانوری اثرات سیپروهپتادین بر رفتارهای اضطرابی را به بلوک کردن گیرنده‌های سروتونینی نسبت داده‌است. بنابراین، با توجه به نقش گیرنده‌های  $5HT_{2A}$ ،  $5HT_{2B}$  و  $5HT_{2C}$  در تنظیم روند اضطراب و همچنین کاهش رفتارهای اضطرابی توسط آنتاگونیست‌های  $5HT_2$ ، می‌توان اثر ضداضطرابی خفیف تجویز به تنهایی سیپروهپتادین در مقایسه با گروه بیمار را به اثر آنتاگونیستی این دارو بر گیرنده‌های  $5HT_2$  نسبت داد (۲۳).

است، در حالی که داروی سیپروهپتادین به عنوان آنتاگونیست غیراختصاصی گیرنده‌های  $5HT_2$  در کاهش سطوح هورمون‌های تیروئیدی در مقایسه با کاهش اضطراب موثرتر عمل کرد. بنابراین، مطالعات بیشتری نیاز است تا ارتباط پیچیده محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید (HPT) و سیستم نوروترانسمیتری و مکانیسم عملکردی آنها روشن شود.

### سپاسگزاری و سپاسداری

نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مدیریت محترم دانشکده علوم و معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه به خاطر همکاری و پشتیبانی مالی ابراز می‌دارند. نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

مهار می‌کند و از سویی این دارو، کارکرد ضد دوپامینرژیک و ضد هیستامینرژیک دارد و دوپامین نیز مهم‌ترین عامل تنظیم کننده پرولاکتین است (۳۱)، بنابراین، گمان می‌رود اثر کاهش دهنده‌گی داروی سیپروهپتادین به تنهایی یا همراه داروی فلوکستین بر غلظت سرمی هورمون‌های تیروئیدی به دلیل اثر ضد دوپامینرژیک یا ضد هیستامینرژیک این دارو یا داروها و در نهایت افزایش میزان پرولاکتین باشد. روی هم رفته، از یافته‌های پژوهش ما می‌توان نتیجه گرفت القای استرس بی حرکتی مژمن علاوه بر آفرینش رفتار شبه اضطرابی در موش‌ها، نقشی فزاینده در عملکرد اندوکرینی غده تیروئید دارد. با این وجود داروی ضد افسردگی فلوکستین با افزایش سروتونین سیناپسی در کاهش واکنش‌های اضطرابی و کاهش سطوح هورمون‌های تیروئیدی در موش‌های صحرایی موثر

### منابع

1. Miller j, Michael W, Monnet M, Davy M. Managing antidepressant overdoses. *Emerg Med Serv* 2004;33:113-119.
2. Olah T, Ocsovszki I, Mandi Y, Pustai R, Bakay M, Balint E. Opposite effects of serotonin and Interferon- $\alpha$  on the membrane potential and function of human natural killer cells. *J In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2005;41(5-6):165-170.
3. Meneses A, Perez-Garcia G, Ponce-Lopez T, Tellez R, Castillo C. Serotonin transporter and memory. *Neuropharmacol* 2011;61(3):355-363.
4. Best J, Nijhout HF, Reed M. Serotonin synthesis, release and reuptake in terminals: a mathematical model. *Theor Biol Med Model* 2010;7:34
5. Fossat P, Bacque-Cazenave J, De Deurwaerdere P, Delbecque JP, Cattaert D. Comparative behavior. Anxiety-like behavior in crayfish is controlled by serotonin. *Sci* 2014;344(6189):1293-1297.
6. Charney DS, Woods SW, Goodman WK, Heninger GR. Serotonin function in anxiety: II. Effects of the serotonin agonist, MCPP, in panic disorder patients and healthy subjects. *Psychopharmacol* 1987;92:14-24.
7. Solati J, Zarrindast MR, Salari AA. Dorsal hippocampal opioidergic system modulates anxiety-like behaviors in adult male Wistar rats. *Psych Clin Neurosci* 2010;64:634-641.
8. Klomp A, Vaclavu L, Meerhoff GF, Reneman L, Lucassen PJ. Effects of chronic fluoxetine treatment on neurogenesis and tryptophan hydroxylase expression in adolescent and adult rats. *PloS One* 2014;9(5):1-10.
9. Donaldson ZR, Piel DA, Santos TL, Richardson-Jones J, Leonardo ED, Beck SG. Developmental Effects of Serotonin 1A Autoreceptors on Anxiety and Social Behavior. *Neuropsychopharmacol* 2014;39(2):291-302.
10. Leonard BE. Serotonin receptors and their function in sleep, anxiety disorders and depression. *Psychother Psychosom* 1996;65:66-75.
11. Kessler RC, Chiu WT, Demler O, Merikangas KR, Walters EE. Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry* 2005;62(6):617-627.
12. Mozafar A, Keshavarz k, Zareian P, Johary H, Kargarjahromi H, Hoseini S. The Effect of Immobilization Stress on the HPG Axis (Hypothalamic - Pituitary- Gonad) Hormones and the Number of Spermatogonia. *J Fasa Univ Med Sci* 2013;3(3):280-284.
13. Enginar N, Yamantürk-Celik P, Nurten A, Guney DB. Learning and memory in the forced swimming test: effects of antidepressants having varying degrees of anticholinergic activity. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2016;389(7):739-45.
14. Bryce GF, Jacoby JH. Paradoxical short-term effects of cyproheptadine on insulin and glucagon release in the rat. *Eur J Pharmacol* 1979;54(4):349-57.

15. Ghorbani B, Nasehi M, Khakpour S, et al. The effects of nicotine injection in rat nucleus accumbens on anxiety. *Tehr Uni Med J* May 2013;71(2):71-78. [Text in Persian]
16. Young DS, Pestaner LC, Gibberman V. Effects of drugs on clinical laboratory tests. *Clin Chem* 1975;21(5):1-432.
17. Zangrossi HJr, Graeff FG. Serotonin in anxiety and panic: contributions of the elevated T-maze. *Neurosci Biobehav Rev* 2014;46(3):397-406.
18. Waldinger MD, Berendsen HH, Blok BF, Olivier B, Holstege G. Premature ejaculation and SSRI- induced delayed ejaculation: the involvement of the serotonergic system. *Behav Brain Res* 1998;92(2):111-118.
19. Kirby LG, Allen AR, Lucki I. Regional differences in the effects of forced swimming on extracellular levels of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid. *Brain Res* 1995;682(1-2):189-196.
20. Harris GC, Aston-Jones G. Augmented accumbal serotonin levels decrease the preference for a morphine associated environment during withdrawal. *Neuropsychopharmacol* 2001;24(1):75-85.
21. Bordukalo-Niksic T, Mokrovic G, Stefulj J, Zivin M, Jernej B, Cicin-Sain L. 5HT-1A receptors and anxiety-like behaviours: studies in rats with constitutionally upregulated/downregulated serotonin transporter. *Behav Brain Res* 2010;213(2):238-245.
22. Sanders J, Mayford M. Chronic fluoxetine dissociates contextual from auditory fear memory. *Neuroscience Letters* 2016;632:152-156.
23. Heisler LK, Zhou L, Bajwa P, Hsu J, Tecott LH. Serotonin 5-HT<sub>2C</sub> receptors regulate anxiety-like behavior. *Genes Brain Behav* 2007;6(5):491-496.
24. Kioukia N, Bekris S, Antoniou K, Papadopoulou-Daifoti Z, Christofidis I. Effects of chronic mild stress (CMS) on thyroid hormone function in two rat strains. *Psychoneuroendocrinol* 2000;25(3):247-257.
25. Kamble MT, Nandedkar PD, Dharme PV, Bhosale PG. Thyroid function and mental disorders: an insight into the complex interaction. *J Clin Diagn Res* 2013;7(1):11-14.
26. Eker SS, Akkaya C, Sarandol A, Cangur S, Sarandol E, Kirli S. Effects of various antidepressants on serum thyroid hormone levels in patients with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008;32(4):955-961.
27. Breen KM, Billings HJ, Wagenmaker ER, Wessinger EW, Karsch FJ. Endocrine basis for disruptive effects of cortisol on preovulatory events. *Endocrinol* 2005;146(4):2107-2115.
28. Uday G, Pravinkumar B, Manish W, Sudhir U. LHRH antagonist attenuates the effect of fluoxetine on marble-burying behavior in mice. *Eur J Pharmacol* 2007;563(1-3):155-159.
29. Ebrahimian A, Hemayatkhah-Jahromi, Forouzanfar M. Effect of fluoxetine on hormonal axis of pituitary-gonad in adult female rats. *Feyz* 2014;17(6):517-521. [Text in Persian]
30. Duval F, Mokrani MC, Bailey P, Correa H, Diep TS, Crocq MA, et al. Thyroid axis activity and serotonin function in major depressive episode. *Psychoneuroendocrinol* 1999;24(7):695-712.
31. Egge AC, Rogol AD, Varma MM, Blizzard RM. Effect of cyproheptadine on TRH-stimulated prolactin and TSH release in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1977;44(1):210-213.



# Role of the Serotonergic System in the Anxiety- like Behavior of Male Rats Under Immobilization Stress

\*Razieh Bayramlou (MSc)<sup>1</sup>-Mehdi Mohammadzadeh(MD)<sup>2</sup>-Farrin Babaei(MD)<sup>2</sup>

\*Corresponding Address: MSc Student in Animal Physiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

Email: rbayramloo@yahoo.com

Received: 03/Dec/2016 Revised: 16/Apr/2017 Accepted: 21/May/2017

## Abstract:

**Introduction:** Anxiety disorders are among major problems for humanity, often due to imbalance in the activity of brain monoaminergic systems. clinical evidence indicates the possible disorder of Serotonergic neurons in the pathophysiology of anxiety, therefore, in the present study, Fluoxetine and Cyproheptadine drugs were used as modifiers of serotonin levels in the brain, to evaluate the role of Serotonergic system in the development or alleviation of anxiety- like disorders.

**Objective:** This study aims to investigate the role of serotonergic system in anxiety- like behavior changes and thyroid hormones metabolic changes in male rats under immobilization stress.

**Materials and Methods:** 30 male adult wistar rats, weighing  $180\pm 20$  g, were randomly divided into five groups of 6. immobilization stress was induced in the rats by limiting polyethylene, and anxiolytic evaluation of the effects of drugs in the treated groups was performed using the elevated plus-maze test. In this study, fluoxetine with concentration of 20 mg/kg and cyproheptadine with concentration of 4 mg/kg were intraperitoneally administered to the animals. at the end of the treatment period, effects of drugs on anxiety like behavior of immobilization stress-induced and thyroid hormones serum levels were measured using an ELISA kit. The data were analyzed at a significance level of  $p<0.05$  using one-way ANOVA, and tukey's post hoc test

**Results:** The results of the plus-maze test showed that the percentage of time spent in the open arms in the stress group was significantly decreased, compared with the control group ( $p<0.001$ ). the administration of fluoxetine or cyproheptadine under immobilization stress on the animals leads to a decrease in this indicator, compared to that in the control group ( $p<0.001$ ). the immobilization stress in animals under stress serum concentrations of T3 and T4, compared to the control animals, increased ( $p<0.001$ ), while administration of such medications restored somehow this index to that in the controls .

**Conclusion:** The results indicate the improving effects of serotonergic system in the control of anxiety- like behavior and thyroid hormones secretion

**Conflict of Interest:** none Declared

**Keywords:** Anxiety, Cyproheptadine, Fluoxetine, Rats, Stress

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 102, Pages: 11-19

**Please cite this article as:** Bayramlou R, Mohammadzadeh M, Babaei F. Role of the Serotonergic System in the Anxiety- like Behavior of Male rat under Immobilization Stress J of Guilan Univ of Med Sci 2017; 26(99):11-19. [Text in Persian]

1. MSc Student in animal Physiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran