

The effects of testosterone and naloxone treatments on fear behavior in gonadectomized rats

Fatemeh Khakpay¹, Parvin Rostami^{2*}, Aliasghar Pilevarian¹

1- Dept. Biology, Isfahan Payame Noor University, Isfahan, Iran

2- Dept. Biology, Tarbiat Moallem University, Tehran, Iran.

Abstract

Introduction: Effective perception of fear signals is crucial for organism survival. When threatened, the organism indicates defensive behaviors.

Methods: Elevated plus-maze has high efficiency for measurement of fear behavior and is widely used for fear behavior determination. Increase in two parameters; percent of open-arm entries (%OAE) and percent of time spent in the open-arm (%OAT) in the elevated plus-maze were considered as the indexes of fear reduction effect. In this study, the effect of testosterone and naloxone on fear behavior of gonadectomized rats (GDX) was investigated. Also, the interaction of testosterone with naloxone was investigated.

Results: Subcutaneous (SC) injections of different doses of testosterone (100, 200, 300, 450 µg /rat) increased the %OAE and %OAT in a dose dependent manner. Maximum response was obtained by 450 µg/rat dose of testosterone ($P < 0.001$). SC injections of opioid receptors antagonist, naloxone 1, 2.5, 5, 7.5 mg / kg reduced %OAE and %OAT ($P < 0.01$).

Conclusion: It may be concluded that testosterone decreases fear behavior and naloxone increased fear behavior. Also the results indicate that there is an interaction between testosterone and naloxone ($P < 0.001$).

Key words: Gonadectomy, Testosterone, Naloxone, Open arm entries, Time spent in the open arm.

* Corresponding Author Email: rostami@saba.tmu.ac.ir

اثر تیمار با تستوسترون و نالوکسان بر رفتار ترس در رتهای گنادکتومی شده

فاطمه خاکپای^۱، پروین رستمی^{۲*}، علی اصغر پيله وریان^۱

۱- اصفهان، دانشگاه پیام نور اصفهان، گروه زیست شناسی

۲- تهران، دانشگاه تربیت معلم تهران، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

دریافت: خرداد ۸۵ بازبینی: مهر ۸۵ پذیرش: آبان ۸۵

چکیده

مقدمه: درک به موقع نشانه‌های خطر برای بقای موجودات زنده ضروری است. موجودات زنده به هنگام مواجه شدن با خطر، دچار ترس می‌شوند و پاسخ‌های رفتاری نشان می‌دهند.

مواد و روشها: Elevated plus – maze برای سنجش ترس کارایی بیشتری دارد از آن برای تعیین ترس استفاده می‌شود. افزایش در دو پارامتر، یکی درصد ورود به بازوی باز (OAE %) و دیگری درصد زمان سپری شده در بازوی باز (OAT %)، Elevated plus-maze (ماز + مرتفع) نشان دهنده کاهش ترس می‌باشد. در مطالعه حاضر اثر تستوسترون و نالوکسان بر روی رفتار ترس در رتهای گنادکتومی شده بوسیله Elevated plus-maze مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین در این پژوهش برهمکنش تستوسترون با نالوکسان مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: تزریق زیرجلدی (SC) (دوزهای مختلف تستوسترون $100, 200, 300, 450 \mu g / rat$) موجب افزایش وابسته به دوز OAE % و OAT % گردید. بیشترین پاسخ را دوز $450 \mu g / rat$ دارو ایجاد نمود ($P < 0.001$). تزریق نالوکسان، آنتاگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی با دوزهای (1, 2.5, 5, 7.5 mg / Kg) باعث کاهش OAE % و OAT % گردید ($P < 0.01$).

نتیجه گیری: باتوجه به این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که تستوسترون موجب کاهش رفتار ترس و نالوکسان موجب افزایش رفتار ترس می‌شود. همچنین نتایج آزمایشات نشان داد، تستوسترون با نالوکسان برهمکنش دارد ($P < 0.001$).

کلمات کلیدی: گنادکتومی، تستوسترون، نالوکسان، درصد ورود به بازوی باز، درصد زمان سپری شده در بازوی باز.

مقدمه

ترس در انسان و حیوانات از نظر محرک شروع کننده تفاوت دارد مکانیسمهای اساسی مغز در رفتار ترس، در گونه‌های متفاوت؛ مشابه است. بنابراین واکنش سیستم ترس در انسان یارت مشابه است و از یک مجموعه محدود از پاسخ‌های دفاعی استفاده می‌کنند (۱۶). مطالعات رفتاری نشان می‌دهد، تجربه ترس ممکن است از طریق مشاهده محرک ترسناک بوجود آید که کمتر از 500 ms (۱۸). در نوزاد رت‌ها ترس از

ترس پاسخ فیزیولوژیکی به حوادث خطرناک است و برای بقای ارگانیسم‌ها ضروری است. (۱۴) به طور عمده واکنش

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبات:
rostami@saba.tmu.ac.ir

گنادکتومی (GDX)

حیوانات توسط تزریق درون صفاقی محلول کتا مین هیدروکلراید (7.5mg/kg) و گزایلین (10mg/kg) بیهوش می شدند. 2cm شکاف عرضی در اسکروتوم ایجاد می شد و پوست عقب کشیده می شد تا بیضه ها نمایان شوند. بیضه ها با فشار ملایمی در ناحیه لگنی قرار می گرفتند. شریان اسپرماتیک فشرده می شد و بیضه ها برداشته می شدند. سپس اپی دیدیم و وازدفران به درون اسکروتوم منتقل می شد و محل شکاف با نخ بخیه و سوزن جراحی بخیه زده می شد (۱۴ و ۴).

داروها

داروهای مورد استفاده شامل تستوسترون از شرکت داروسازی ابوریحان و نالوکسان از معاونت دارویی وزارت بهداشت و درمان تهیه شده است. نالوکسان در Saline و تستوسترون در Sesame oil (روغن کنجد) حل می شد. تزریق تمام داروها به طریق زیرجلدی (SC) انجام می شد. تزریق تستوسترون یک ساعت قبل از انجام تست رفتاری صورت می گرفت، تاتستوسترون به مغز برسد (۵). تزریق نالوکسان ۵ دقیقه قبل از تست صورت می گرفت.

تست رفتاری

برای سنجش رفتارهای مربوط به ترس از Elevated plus-maze استفاده می شد. این دستگاه از جنس چوب و دارای دو بازوی باز و دو بازوی بسته است. شکل دستگاه طوری است که دو بازوی باز رو به روی هم قرار دارند. Maze توسط پایه هایی در ارتفاع 50cm از سطح زمین قرار می گیرد. ابعاد بازوهای باز و بسته 49×10cm است، در دو طرف و انتهای بازوی بسته دیواری به بلندی 40cm وجود دارد و برای جلوگیری از افتادن موش در دو طرف و انتهای بازوی باز لبه ای به ارتفاع 1cm از جنس شیشه وجود دارد. چهار بازو، به یک محدوده مرکزی به ابعاد 10×10cm منتهی می شوند (3 و 5). هر موش قبل از قرار گرفتن در Plus-maze ابتدا در جعبه ای به

بوی شکارچی در حدود ۱۰ روز بعد از تولد ظاهر می شود. ظهور رفتار ترس با عملکرد آمگیدال و افزایش سطح کورتیکواسترون (CORT) مرتبط است (15). همچنین تغییرات اتونومیک مانند افزایش ضربان قلب (HR) و هدایت تحریکی پوست در پاسخ به سیگنالهای ترس اتفاق می افتد (17, 18).

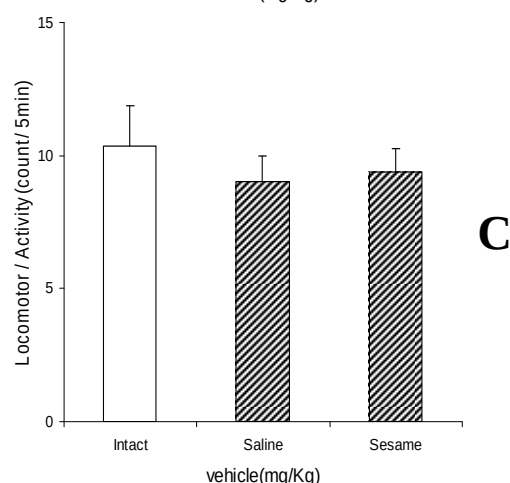
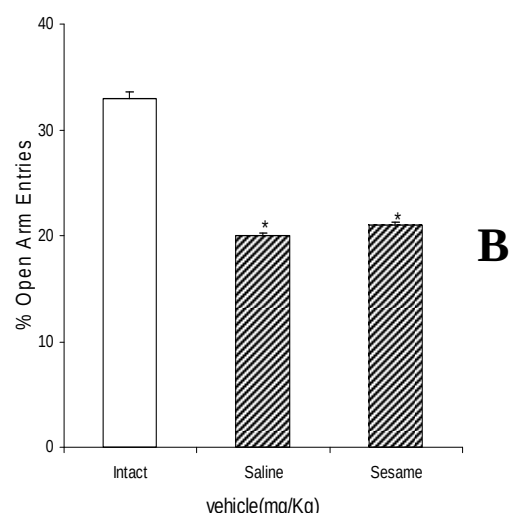
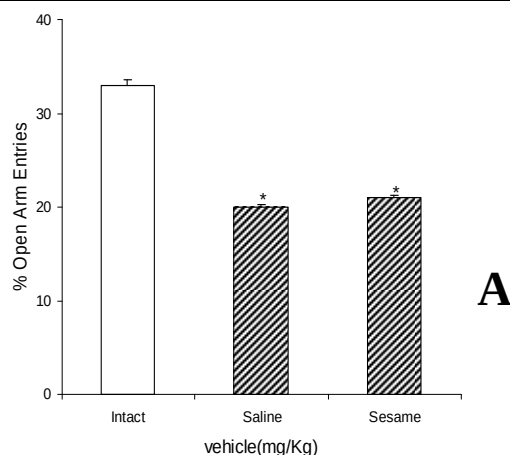
برخی از ساختارهای مغز مانند آمگیدال، مغز جلویی، هسته (NAC) Accumbens، هیپوکامپ، کورتکس پری فرونتال میانی (mpfc) و قشر مربوط به حس پیکری به عنوان اجزای نورونی کلیدی در احساس سیگنالهای ترس معرفی شده اند. این اجزا واکنش اختصاصی فعالیت زیر قشری و اینترگرسیون آن در نواحی پری فرونتال و کورتکس ارتباطی را نشان می دهند (16, 18). با توجه به اینکه عوامل متعددی در بروز رفتار ترس نقش دارند و تاکنون اثر گنادکتومی در رفتار ترس بررسی نشده است، لذا هدف از این تحقیق تعیین اثر گنادکتومی بر روی رفتار ترس با استفاده از تستوسترون و نالوکسان در حیوانات گنادکتومی شده می باشد.

اثر تستوسترون در کاهش ترس در انسان و حیوانات ثابت شده است. نالوکسان یکی از آنتاگونیست های مورفین است که اکتساب ترس به زمینه و محرک شرطی شنوایی را تسهیل می کند.

مواد و روش ها

حیوانات مورد آزمایش

در این تحقیق از موشهای صحرایی نر نژاد ویستار (Wistar) خریداری شده از انستیتو پاستور کرج به وزن تقریبی 200 – 150g استفاده شد. موشها در گروه های هشت تایی در قفسهای جدا نگهداری شدند و درجه حرارت اتاق پرورش حیوانات ۲۴-۲۲ °C و نور به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم شده بود. غذای مخصوص موش و آب کافی در تمام مدت نگهداری به جز زمان آزمایش در اختیار حیوان قرار داشت.



ابعاد $60 \times 60 \times 35$ cm به مدت 5 دقیقه قرار می‌گرفت. مطالعات قبلی نشان دادند که این روش مجموع تعداد داخل شدن حیوان را به قسمت‌های مختلف Plus-maze افزایش می‌دهد. پس از گذشتن زمان لازم حیوان بلافاصله از داخل جعبه به maze منتقل می‌شد، بطوریکه در مربع مرکزی، رو به یک بازوی بسته قرار می‌گرفت. نور مناسب توسط یک لامپ 100 واتی که در ارتفاع 120 cm از مرکز maze قرار داشت، تامین می‌شد. در مدت 5 دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در قسمت‌های مختلف maze حرکت می‌کرد، پارامترهای زیر به روش مشاهده اندازه‌گیری می‌شد:

- تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی باز می‌شد.
 - تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی بسته می‌شد.
 - مدت زمانی که حیوان در بازوی باز باقی می‌ماند.
 - مدت زمانی که حیوان در بازوی بسته باقی می‌ماند.
- منظور از ورود به بازوی باز یا بسته هنگامی است که هر چهار پای حیوان در بازوی مورد نظر قرار می‌گرفت. زمان سپری شده در هر بازو نیز بر همین اساس محاسبه شده است (۵).

آنالیز آماری

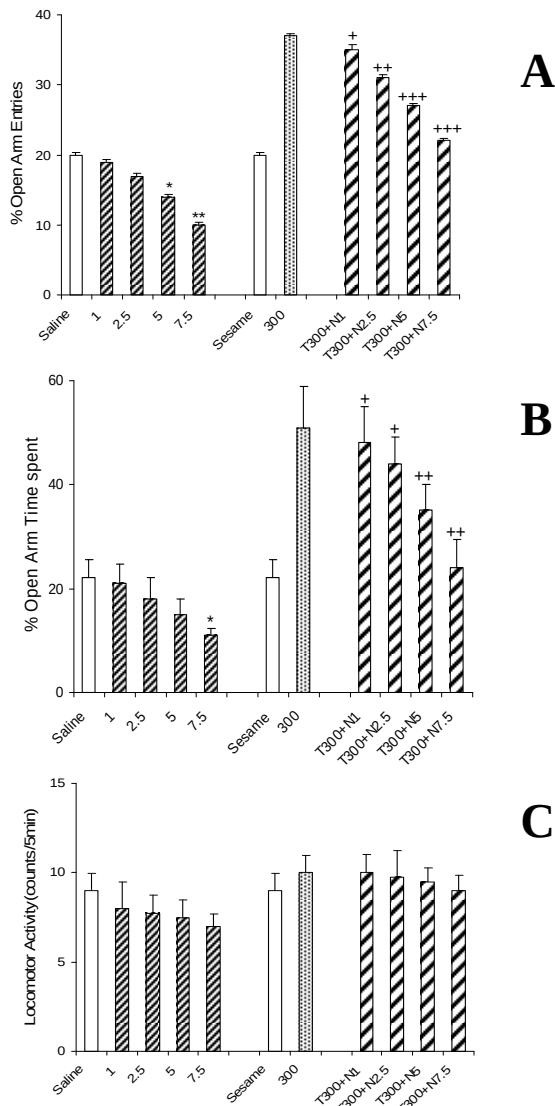
محاسبات به روش آنالیز واریانس یک طرفه و دو طرفه انجام شده است. در کلیه آزمایشات حداقل سطح تفاوت معنی دار که از لحاظ آماری قابل قبول باشد $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

گروه‌های آزمایشی

رت‌های گروه کنترل (Intact) که جراحی نشده و هیچ دارویی دریافت نکردند.

رت‌های گروه شام (Sham) که جراحی شده و Vehicle (حلال) دریافت می‌کردند. در این گروه به رت‌های شام سالین (Saline) و یا روغن کنجد (Sesame oil) به صورت 0.2 mg / Kg تزریق می‌شد.

نمودار ۱- با توجه به نمودار 1 مشاهده می‌گردد که گنادکٹومی باعث کاهش درصد ورود به بازوی باز (%OAE) و کاهش درصد زمان سپری شده در بازوی باز (%OAT) و نیز کاهش فعالیت حرکتی (Locomotor/ Activity) باعث افزایش رفتار ترس می‌شود.



رتهای گروه گنادکتومی (GDX) که جراحی شده و دارو دریافت می کردند.

۱-۳- رت های GDX که دوزهای مختلف تستوسترون (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۵۰ $\mu\text{g/rat}$) به صورت زیرجلدی (SC) یک ساعت قبل از تست تزریق می شد.

۲-۳- رت های GDX که دوزهای مختلف نالوکسان (۱، ۲، ۵، ۷، ۵ mg/Kg) به صورت SC، ۵ دقیقه قبل از تست تزریق می شد (۱۱).

۳-۳- رت های GDX که تستوسترون $300 \mu\text{g/rat}$ را به صورت SC یک ساعت قبل از تست و دوزهای مختلف نالوکسان (۱، ۲، ۵، ۷، ۵ mg/Kg) را به صورت SC، ۵ دقیقه قبل از تست دریافت می کردند.

یافته ها

اثر گنادکتومی بر روی رفتار ترس

در ابتدا برای بررسی تاثیر گنادکتومی بر روی رفتار ترس، گروه کنترل (Intact) را با گروه شم (Sham) جراحی شده که حلال (Vehicle) سالیین و روغن کنجد را با دوز 0.2 mg/Kg به صورت زیر جلدی دریافت می کردند، مقایسه کردیم. با توجه به نمودارها مشاهده می گردد که گنادکتومی موجب کاهش درصد ورود به بازوی باز (%OAE) شده است. تحلیل های آماری به طریق آنالیز واریانس یک طرفه صورت گرفته است:

$$F(3,24)=3.631 \text{ (} P<0.05 \text{)}$$

همچنین گنادکتومی موجب کاهش درصد زمان سپری شده در بازوی باز (%OAT) شده است. با نتایج آماری ANOVA یک طرفه: $F(3,24)=9.514 \text{ (} P<0.001 \text{)}$ نشان دهنده افزایش ترس در اثر گنادکتومی است. با توجه به نمودار 1C مشاهده می گردد که گنادکتومی باعث کاهش فعالیت حرکتی نیز شده است. تحلیل های آماری به روش آنالیز واریانس یک طرفه صورت گرفته است. $F(3,24)=0.108 \text{ (} P>0.05 \text{)}$

N(mg/Kg) T($\mu\text{g/rat}$) T($\mu\text{g/rat}$) + N(mg/Kg)

نمودار ۲- با توجه به نمودارهای درصد ورود به بازوی باز (%OAE) درصد زمان سپری شده در بازوی باز (%OAT) فعالیت حرکتی (Locomotor/ Activity) ملاحظه می گردد که تستوسترون با نالوکسان برهمکنش دارد، بطوریکه نالوکسان باعث کاهش اثر تستوسترون می شود.

اثر نالوکسان و برهمکنش تستوسترون با نالوکسان بر روی رفتار ترس

نمودارها نشان می دهد که تزریق SC نالوکسان با دوزهای (۲، ۱/۵، ۵، ۷/۵ g/Kg) موجب کاهش (%OAE)، آنالیز واریانس یک طرفه $F(3,24)=3.212 \text{ (} P<0.01 \text{)}$ و

اصلی آندروژن هاست، باعث کاهش تستوسترون و در نتیجه افزایش رفتار اضطرابی و ترس می‌شود. تزریق تستوسترون، برخی از اثرات GDX را اصلاح می‌کند، ورود به بازوی باز را افزایش می‌دهد و رفتار ترس در پاسخ به خطر را کاهش می‌دهد. ولی همانطور که قبلاً اشاره شد، اگرچه درمان با آندروژن، افزایش معنی دار درصد ورود به بازوی باز و نیز درصد زمان سپری شده در بازوی باز (Elevated plus-maze) تقریباً ۴۰٪-۷۰٪ را ایجاد می‌کند؛ در رت‌های درمان شده با آندروژن رفتار اضطرابی کاملاً برطرف نمی‌شود (۵).

تستوسترون

تزریق تستوسترون باعث افزایش درصد ورود به بازوی باز، درصد زمان سپری شده در بازوی باز و نیز افزایش فعالیت حرکتی می‌شود. این داده‌ها نشان می‌دهند که تستوسترون در مهار ترس نقش دارد. این تئوری توسط Aikey J. و همکاران (۱) در سال ۲۰۰۲ که با تزریق تستوسترون کاهش ترس را در Mice های نر مشاهده کردند، تأیید شد.

Jones R. و همکاران (۱۳) در سال ۲۰۰۲ اعلام کردند که تستوسترون در بیان ترس و هیجان نقش دارد. تستوسترون در انسان و حیوانات سبب کاهش ترس می‌شود (۹). به عبارت دیگر این هورمون دارای اثرات ضد اضطرابی است (۵). در تأیید این نظر King J. و همکاران (۱۴) در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که کمبود تستوسترون باعث افزایش معنی دار زمان Freezing و نیز افزایش معنی دار رفتار ترس رت‌های نر می‌شود.

نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر نشان می‌دهد که تزریق زیر جلدی (SC) تستوسترون باعث افزایش درصد ورود به بازوی باز (OAE %)، افزایش درصد زمان سپری شده در بازوی باز (OAT %) و نیز افزایش فعالیت حرکتی می‌شود که نشان دهنده کاهش ترس توسط این هورمون می‌باشد. به نظر می‌رسد، اثر ضد اضطرابی تستوسترون در آمیگدال و هیپوکامپ صورت می‌گیرد. هیپوکامپ تمام آنزیم‌های لازم برای متابولیسم تستوسترون را دارا می‌باشد. تستوسترون پلاستی سیتی سیناپسی را در هیپوکامپ رت‌های نر کاهش می‌دهد، سپس به استروژن

[F(۳) کاهش (%OAT)، آنالیز واریانس یک طرفه ($P < 0.01$) و $F(۳,۳۴) = ۴/۳۴۶$] و نیز کاهش فعالیت حرکتی [آنالیز واریانس یک طرفه ($P > 0.05$) و $F(۳,۳۴) = ۰/۶۵۶$] می‌شود که نشان دهنده افزایش ترس می‌باشد. همچنین نمودار نشان می‌دهد که برهمکنش تستوسترون با نالوکسان موجب کاهش OAE %، [ANOVA دو طرفه ($P < 0.01$) و $F(۱۱,۸۸) = ۱۰/۵$] و کاهش (%OAT)، [ANOVA دو طرفه ($P < 0.01$) و $F(۱۱,۸۸) = ۵/۵$] و نیز کاهش فعالیت حرکتی [ANOVA دو طرفه ($P > 0.05$) و $F(۱۱,۸۸) = ۲/۶۶۷$] می‌شود.

تزریق SC تستوسترون (دوز $۳۰۰ \mu\text{g} / \text{rat}$) یک ساعت قبل از تست و تزریق SC نالوکسان با دوزهای $۵, ۲/۵, ۵, ۷/۵ \text{mg/Kg}$ ، ۵ دقیقه قبل از تست صورت می‌گرفت.

بحث

در این پژوهش اثر گنادکتومی بر روی رفتار ترس مطالعه شده است. تحقیقات قبل نشان داده است که گنادکتومی (GDX) در رفتار ترس نقش دارد، به طوریکه Edinger K. و همکاران (۶) در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که رت‌های GDX در مقایسه با رت‌های Intact رفتار Freezing بیشتری را نشان می‌دهند. همچنین رت‌های GDX نسبت به رت‌های نر سالم رفتار ترس بیشتری، در پاسخ به خطر نشان می‌دهند (۵). در تأیید این نظر Frye C. and Edinger K. (۷) در سال ۲۰۰۴ و نیز Hume J. و همکاران (۱۰) در سال ۲۰۰۵ اعلام کردند که گنادکتومی (GDX) غلظت تستوسترون و نیز رفتارهای تهاجمی نرها را کاهش می‌دهد. نتایج بدست آمده در این پژوهش نیز نشان می‌دهد که گنادکتومی باعث کاهش درصد ورود به بازوی باز (OAE %)، کاهش درصد زمان سپری شده در بازوی باز (OAT %) و نیز کاهش فعالیت حرکتی می‌شود که نشان دهنده افزایش ترس می‌باشد. به نظر می‌رسد، خارج کردن بیضه‌ها (گنادکتومی، GDX) که منبع

هیپوتالاموس بلوکه می‌کند. این رسپتورها به طور مستقیم در ارتباط با ترشح GnRH هستند. بلوک این رسپتورها توسط نالوکسان، آزاد شدن LH و در نتیجه آزاد شدن تستوسترون را مهار می‌کند. بدین ترتیب نالوکسان باعث افزایش ترس می‌شود. این تحقیق نیز نشان می‌دهد که گنادکتومی باعث افزایش رفتار ترس می‌شود که با تزریق تستوسترون، اثرات گنادکتومی معکوس می‌شود. بنابراین تستوسترون نیز در کاهش رفتار ترس نقش دارد و دارای اثرات ضد اضطرابی می‌باشد. نتایج به دست آمده از این آزمایشات نیز نشان دادند که تستوسترون باعث کاهش ترس در رت‌ها می‌شود. در صورتیکه نالوکسان اضطراب را زایل کرده و سبب افزایش رفتار ترس می‌شود. همچنین تستوسترون با نالوکسان برهمکنش دارد. به طوریکه نالوکسان غلظت تستوسترون پلاسما را کاهش می‌دهد و باعث افزایش ترس می‌شود.

منابع

- [1] Aikey J, Nyby JG, Anmuth DM, James PJ, Testosterone rapidly reduces anxiety in male house mice. *Horm Behav* 42 (2002) 448-460.
- [2] Bodnar richard J, klein gad E, Endogenous opiates and behavior. *Peptides* 33 (2005) 125-127.
- [3] Boulton A, Baker G, Neuromethods (Animal Models in Psychiatry) Human Press Clifton, New Jersey, U.S.A. (1991) 199-223.
- [4] Craft R, Heideman L, Bartok R, Effect of gonadectomy on discriminative stimulus effect of morphine in female versus male rats. *Drug alcohol Depen* 21(1999) 95-109.
- [5] Edinger KL, Frye CA, Testosterones anti-anxiety and analgesic effect may be due in part to actions of its 5 α -reduced metabolites in the hippocampus. *Psychoneuroendocrino* 42(2005) 418-430.

تبدیل شده؛ بر روی رسپتورهای GABA و NMDA در هیپوکامپ، آمیگدال یا دیگر نواحی مغز قرار می‌گیرد. با توجه به اینکه GABA نوروترنسمیتر مهاری است، به این ترتیب روند مهار ترس اتفاق می‌افتد.

نالوکسان

نتایج آزمایشات ما نشان می‌دهد که دوزهای مختلف نالوکسان درصد ورود به بازوی باز، زمان سپری شده در بازوی باز و فعالیت حرکتی را کاهش می‌دهد. این اثر وابسته به دوز بوده و بیشترین کاهش را دوز ۷/۵mg/Kg ایجاد کرد که نشان دهنده اثر اضطراب زایی این دارو می‌باشد.

در تایید این نظر Bodnar R. and Klein G. (۲) در سال ۲۰۰۵ اعلام کردند که نالوکسان اکتساب ترس را تسهیل می‌کند. به نظر می‌رسد، نالوکسان به طور رقابتی، رسپتورهای اپیوئیدی را بلوکه می‌کند. همچنین افزایش ACTH و کورتیکواسترون ایجاد شده بوسیله مورفین را بلوکه می‌کند، در نتیجه باعث افزایش ترس می‌شود.

برهمکنش تستوسترون با نالوکسان

در مطالعه حاضر، تزریق SC تستوسترون یک ساعت قبل از تست، سپس تزریق SC نالوکسان ۵ دقیقه قبل از تست؛ باعث کاهش اثر تستوسترون بر روی درصد ورود به بازوی باز، درصد زمان سپری شده در بازوی باز و فعالیت حرکتی شده است. در تایید این نظر V. Fuentes و همکاران (۸) در سال ۱۹۹۸ گزارش کردند که تزریق نالوکسان در دوزهای پائین، غلظت تستوسترون پلاسما را تغییر می‌دهد. به نظر می‌رسد که نالوکسان علاوه بر اینکه بطور رقابتی رسپتورهای اپیوئیدی را بلوکه می‌کند و افزایش ACTH و کورتیکواسترون ایجاد شده توسط مورفین را بلوکه می‌کند، همچنین با تغییر دادن غلظت تستوسترون پلاسما؛ باعث افزایش ترس می‌شود. به طوری که Jackson G.L. و همکاران (۱۲) در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که نالوکسان ترشح GnRH و LH را تغییر می‌دهد. نالوکسان به طورانتخابی میو رسپتورهای (μ -receptors) اندورفین‌ها را در

- [13] Jones RB, Andrew RJ, Responses of adult domestic cocks and capons to novel and alarming stimuli. **Behav Process** 13(2002) 189-199.
- [14] King J, Oliveira LD, Washington LD, Patel N, Deficits in testosterone facilitate enhanced fear response. **Psychoneuroendocrino** 13(2005) 333-340.
- [15] Moriceau S, Roth T, Okotoghaide T, Sullivan R, Corticosterone controls the developmental emergence of fear and amygdala function to predator odors in infant rat pups. **Dev Neurosci** 14(2004) 415-422.
- [16] Pezze M, Feldon J, Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. **Prog Neurobiol** 19 (2004) 301-320.
- [17] Tovote P, Meyer M, Pliz PKD, Ronnenberg A, Ove O, Spiess J, Stiedl O, Dissociation of temporal dynamics of heart rate and blood pressure responses elicited by fear but not conditioned acoustic startle. **Behav Neurosci** 32(2005) 55- 65.
- [18] Williams L, Brown K, Das P, Boucsein W, Sokolov E, Brammer MJ, Olivieri G, Peduto A, Gordon E, The dynamic of cortico-amygdala and autonomic activity over the experimental time course of fear perception. **Cognitive Brain Res** 20 (2004) 114-123.
- [6] Edinger K, Lee B, Frye CA, Mnemonic effects of testosterone and its 5 α -reduced metabolites in the conditioned fear and inhibitory avoidance tasks. **Pharmacol Biochem and Behav** 32(2004) 559-568.
- [7] Frye C, Edinger K, Testosterones metabolism in the hippocampus may mediate its anti-anxiety effects in male rats. **Pharmacol Biochem and Behav** 22(2004) 473-481.
- [8] Fuentes VO, Fuentes P, Garcia A., The effect of naloxone on plasma concentrations of testosterone in male goats. **Small Ruminant Res** 14 (1998) 173-176.
- [9] Honk VJ, Peper JS, Schutter DJ, Testosterone reduces unconscious fear but not consciously experienced anxiety: implications for the disorders of fear and anxiety. **Biol Psychiat** 12(2005) 320-325.
- [10] Hume J, Wynne-Edwards KE, Castration reduces male testosterone, estradiol and territorial aggression but not paternal behavior in biparental dwarf hamsters. **Horm Behav** 23(2005) 1-6.
- [11] Islam AK, Beczkowska IW, Bodna RI, Interactions among aging, gender and gonadectomy effects upon naloxone hypophagia in rats. **Physiol Behav** 32(2003) 981-992.
- [12] Jackson GL, Kuehl DE, Interaction of photoperiod, testosterone, and naloxone on GnRH and LH pulse parameters in the male sheep. **Domest Anim Endocrin** 24 (2000) 97-110.