[Article in Persian] Physiology and Pharmacology Vol. 10, Fall 2006, 259-266

Study of interaction between opioid and α-2 adrenergic systems in analgesic effect of oxytocin in locus coeruleus nucleus

Nasrin haghighi[1*], Mahnaz Kessmati[1], Hadi fathi Moghadam[2]

[1]Dept. Biology, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran.
[2]Dept. Physiology, Jondi Shapoor Uuniversity, Ahwaz, Iran.

Abstract

Introduction: Oxytocin is a active neuropeptide of central nervous system. In this study the effects of naloxone (opioid receptor antagonist) and yohimbine (α-2 adrenergic receptor antagonist) on analgesic effect of oxytocin applied into the locus coeruleus (LC) nucleus were investigated.

Methods: Adult male Wistar rats were used. Animals divided into different groups receiving saline, oxytocin (3 nmol / 2µl), naloxone (3 nmol / 2µl) + oxytocin, yohimbine (3 nmol / 2µl) + oxytocin, and naloxone + yohimbine + oxytocin. Hot-plate and tail-flick tests were used to evaluate pain threshold.

Results: Data showed that the injection of oxytocin into the LC nucleus increases the response time to thermal stimulations in both tail flick and hot plate tests. Injection of naloxone and yohimbine either separately and or in combination inhibite the antinociception effect of oxytocin.

Conclusion: It seems that oxytocin induces its inhibitory effect on acute pain via LC nucleus. This effect is probably mediated by the combination of opioid and α-2 adrenergic systems.

Keyword: Oxytocin, Pain, Yohembine, Naloxone, Locus coeruleus nucleus.

* Corresponding Author Email: ns_haghighi@yahoo.com

فیزیولوژی و فارماکولوژی
جلد ۱۰، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۵

بررسی تداخل اثر سیستم اوپیوئیدی و آلفا–۲ آدرنرژیک بر بی دردی حاصل از اکسی‌توسین درهسته لوکوس سرولئوس

نسرین حقیقی[۱*]، مهناز کسمتی[۱]، هادی فتحی مقدم[۲]
(۱) گروه زیست شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز
(۲) گروه فیزیولوژی دانشگاه جندی شاپور اهواز

دریافت: تیر ۸۵ بازبینی: آبان ۸۵ پذیرش: آبان ۸۵

چکیده

مقدمه: اکسی توسین یکی از نوروپپتیدهای فعال در دستگاه عصب مرکزی است. در این تحقیق اثر تزریق نالوکسان (آنتاگونیست گیرنده‌های اوپوئِیدی) ویوهمبین (آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا–۲ آدرنرژیک) بر خاصیت ضد دردی اکسی توسین در هسته لوکوس سرولئوس مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: بدین منظور از موش‌های رات نر بالغ از نژاد Wistar استفاده شد. حیوانات به گروههای دریافت کننده سالین، اکسی توسین(۳nmol/۲µl)، نالوکسان(۳nmol/۲µl) +اکسی توسین، یوهمبین(۳/۳nmol/۲µl) +اکسی توسین، یوهمبین+نالوکسان+اکسی توسین تقسیم شدند. داروها توسط سرنگ هامیلتون در هسته لوکوس سرولئوس تزریق گردید. دو تست صفحه داغ (Hot Plate) و پس کشیدن دم (Tail Flick) جهت ارزیابی درد بکار رفت.

یافته ها: این تحقیق نشان داد که تزریق اکسی توسین در هسته لوکوس سرولئوس زمان پاسخ گویی به محرکهای حرارتی را در هر دو تست افزایش می‌دهد. تزریق نالوکسان، یوهمبین و تزریق توام آنها توانست اثر ضد دردی اکسی توسین را مهار کند.

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد اکسی توسین از طریق هسته لوکوس سرولئوس اثر تسکینی بر درد حاد دارد و احتمالا بواسطه مجموعه گیرنده‌های اوپیوئیدی و گیرنده‌های آلفا–۲ آدرنرژیک این عمل را انجام دهد.

واژه کلیدی: اکسی توسین، درد، یوهمبین، نالوکسان، هسته لوکوس سرولئوس

مقدمه

اکسی توسین، نوروهورمونی است که ضمن داشتن اثرات محیطی بر ماهیچه صاف رحمی و سلولهای میو اپی تلیال غدد شیری و تسهیل فرآیند تولید مثل [12] اثرات متعدد دیگری از طریق سیستم عصبی مرکزی دارد. مطالعات نشان داده است که اکسی‌توسین در بروز رفتارهای جنسی[6,20,23]، مادرانه[18,24]، اجتماعی[13,15]، استرسی[33,25]، تغذیه‌ای[26,30]، حافظه و یادگیری[8,4] دخالت دارد. اکسی‌توسین بخشی از اثرات خود را از طریق گیرنده‌های اکسی توسینی که در قسمتهای مختلف دستگاه اعصاب مرکزی از جمله قشر مغز، سیستم بویایی، عقده‌های قاعده‌ای، سیستم

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبات:
ns_haghighi@yahoo.com

لیمبیک، تالاموس، هیپوتالاموس، ساقه مغز(هسته لوکوس سرولئوس) و شاخ خلفی نخاع به انجام می‌رساند [32].

برخی مطالعات اثرات ضد دردی اکسی توسین را در حیوانات گوناگون و انسان نشان داده است[7]. براساس گزارشات دیگر در هنگام زایمان همزمان با افزایش غلظت اکسی توسین آستانه درد هم افزایش پیدا می‌کند[7]. همچنین نشان داده شده که درد حاد و مزمن میزان اکسی توسین پلاسما و مایع مغزی نخاعی را بالا می‌برد[5]. برخی تحقیقات حاکی از آن است که دوزهای بالای اکسی توسین برای کاهش درد و رنج بیمارانی با سرطانهای مهار نشدنی که نسبت به اوپیوئیدها تحمل یافته‌اند قابل استفاده است[14].

براساس گزارشات موجود یکی از هسته‌های مغزی که بیشترین غلظت اکسی توسین را دارد هسته لوکوس سرولئوس است[16]. این هسته یکی از مراکز مهم ساقه مغز است که نقش بارزی در کنترل درد دارد. نورآدرنالین موجود در این هسته اثرات ضد دردی خود را به طور ویژه از طریق گیرنده‌های آلفا-۲ انجام می‌دهد[22]. وجود آورانهای انکفالینی مهم به هسته لوکوس سرولئوس، تعداد زیاد گیرنده‌های اوپیوئیدی و اثرات قوی پپتیدهای اوپیوئیدی بر این هسته نشان می‌دهد که هسته لوکوس سرولئوس در فعالیت سیستم اوپیوئیدی درون زا دخیل است[29]. هدف ما در این پروژه بررسی اثرات بی دردی اکسی توسین و تداخل آن با دو سیستم اوپیوئیدی و آلفا-۲ آدرنرژیک در هسته لوکوس سرولئوس بوده است.

مواد و روشها

در این تحقیق از ۵ گروه ۶ تایی موشهای نر بالغ نژاد Wistar با وزن۲۹۰-۲۷۰ گرم استفاده شد. موش‌ها در دوره ۱۲ ساعت نور و تاریکی نگهداری شدند، و آب وغذا بطور کافی و آزادانه در اختیار داشتند. دو روز قبل از انجام جراحی و تست به منظور سازگاری با محیط به آزمایشگاه برده شدند.

روش جراحی

موشها با تزریق مخلوط ۱۰ mg/kg رامپون (زیلازین) و ۱۰۰ mg/kg کتامین به صورت درون صفاقی بیهوش شدند. پس از بیهوش شدن، جمجمهٔ موش در دستگاه استریو تاکسی ثابت شد و دو کانول از جنس استیل (سرنگ شمارهٔ ۲۱) براساس اطلس پاکسینوس در سوراخ‌های ایجاد شده در جمجمه هر دو طرف مغز بالای هسته لوکوس سرولئوس با زاویه ۲۵ درجه و مختصات AP =۶/۵ ،L =+۱/۲ و D= ۶/۹ (یک میلی متر بالاتر از عمق هسته) نسبت به برگما قرار گرفت[27]. کانولها به وسیله پیچ عینک و سیمان دندان پزشکی بر روی جمجمه ثابت شدند. برای باز نگهداشتن کانولها از سوزن ۲۵ در داخل آنها استفاده شد. موشها تا زمان بیهوشی در درجه حرارت کنترل شده قرار داشتند. ۱۰ روز پس از جراحی موشها به صورت تصادفی برای انجام آزمایشات انتخاب شدند.

تست صفحه داغ

دستگاه صفحه داغ(Hot Plate) شامل یک محفظه شیشه‌ای و یک صفحه فلزی است که دمای ۱±۵۲ را ایجاد می‌کند. قبل از شروع آزمایش، دمای دستگاه تنظیم می‌شد، وهمزمان با قرار دادن حیوان در دستگاه، کلید زمان سنج زده می‌شد حیوان با گرم شدن پاهایش و احساس درد شروع به لیسیدن آنها می‌کرد در این لحظه با فشردن کلید خاموش کردن تایمر، زمان تحمل درد یا بی دردی ثبت شد[1]. (۱۰ دقیقه پس از آن تست Tail Flick انجام شد).

تست پس کشیدن دم

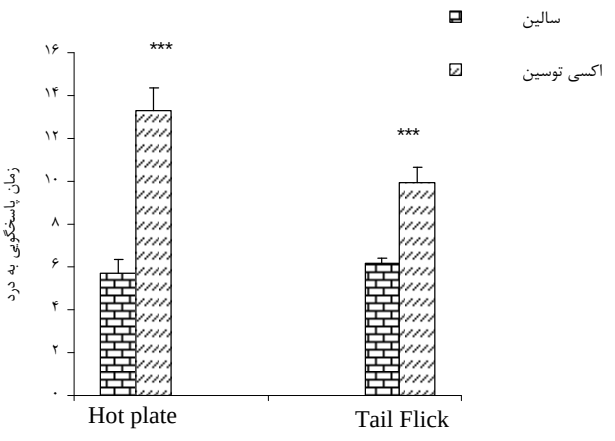
این دستگاه شامل رستریتر یا محفظه نگهدارنده موش وسیستم کنترل می‌باشد. موش‌ها طوری در محفظه نگهدارنده قرار می‌گرفتند که دم حیوان بیرون و قسمت ابتدای دم بر روی سنسور حساس به نور باشد. در این آزمایش شدت نور برروی ۵/۵ و حساسیت برروی ۴ تنظیم شد تا دمایی حدود ۵۰ درجه، که دمای مناسب برای آزمایش است تامین شود. از سه روز قبل

از شروع آزمایش، آموزش حیوان به منظور سازگاری با رسترینر انجام می‌شد. تا استرس ناشی از عدم حرکت کم شود. در روز آزمایش بعد از قرار دادن حیوان در رسترینر، دم در جایگاه مورد نظر ثابت و دکمه شروع برای آغاز تابش زده می‌شد. اگر حیوان تا ۱۳ ثانیه به محرک پاسخ نمی‌داد به منظور جلوگیری از آسیب تابش نور قطع می‌شد. مدت زمان تاخیری برای کشیدن دم ۳ مرتبه و با فواصل ۱ دقیقه اندازه‌گیری می‌شد و میانگین به عنوان زمان تاخیری محاسبه شد[2].

داروها

پودر اکسی توسین (از شرکت دارو سازی رشت)، نالوکسان (ساخت شرکت سهامی تولید دارو) به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیوئیدی، یوهمبین (ساخت شرکت سیبا گایگی) به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک. اکسی توسین با غلظت ۳nmol/۲µl [34] ، یوهمبین با مقدار ۳/۳mg/۲µl [31] و نالوکسان با مقدار ۳nmol/۲µl [34]ابتدا در سالین حل گردیدند و سپس مورد استفاده قرار گرفتند.

داروها با استفاده از سرنگ هامیلتون، لوله پلی اتیلنی و سرسوزن ۲۷ دندانپزشکی در مدت یک دقیقه درون هسته تزریق شد. برای جلوگیری از پس زدن مایع درون کانول یک دقیقه پس از پایان تزریق سرسوزن درون کانول باقی می‌ماند. پس از انجام آزمایشات رنگ آبی متیل از طریق کانول تزریق شد، سپس مغز از جمجمه خارج شده تا پس از فیکس کردن و تهیه برش صحت محل تزریق تایید شود، در صورت عدم تایید داده‌ها حذف می‌شد.



نمودار شماره۱: اثر تزریق اکسی توسین (۳nmol/۲µl) در هسته لوکوس سرولئوس بر زمان پاسخ گویی به درد در دو تست صفحه داغ و پس کشیدن دم. گروه اکسی توسین با (***P<۰/۰۰۱) اختلاف معنی داری با گروه سالین در هر دو تست نشان می دهد.

آنالیز آماری

محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و به کمک آزمونهای t-test تجزیه وتحلیل شدند و اختلاف P<۰/۰۵ بین دو گروه معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

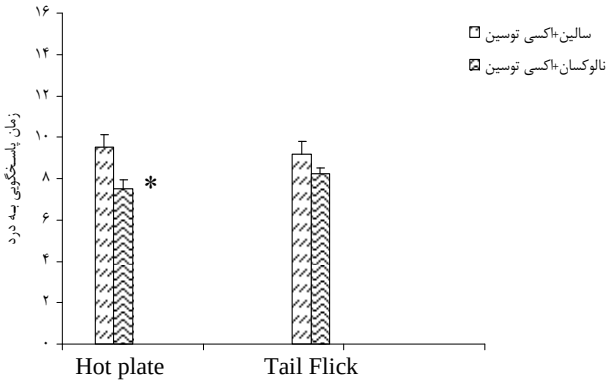
۱) اثر تزریق اکسی توسین در هسته لوکوس سرولئوس بر زمان پاسخ گویی به درد

نمودار شماره۱ نشان دهنده مقایسه بین گروههای دریافت کننده اکسی توسین و سالین در هسته لوکوس سرولئوس است. این دو گروه در دو تست صفحه داغ و پس کشیدن دم با (***P<۰/۰۰۱) اختلاف معنی دار نشان دادند.

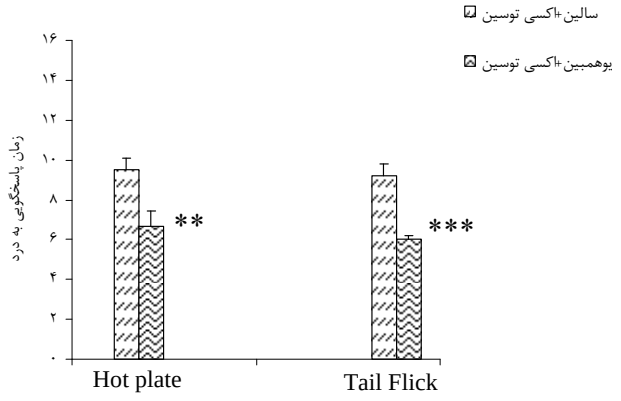
۲)اثر تزریق نالوکسان در هسته لوکوس سرولئوس بر بی دردی ناشی از اکسی توسین

نمودار شماره ۲ نشان دهنده مقایسه گروه دریافت کننده نالوکسان+اکسی توسین با گروه سالین+اکسی توسین است. همان طور که در این نمودار مشاهده می‌شود گروه نالوکسان+اکسی‌توسین در تست صفحه داغ با (*P<۰/۰۵) اختلاف معنی داری با گروه سالین+اکسی‌توسین نشان می‌دهد، در تست پس کشیدن دم نالوکسان نتوانست تاثیر معنی داری بر بی‌دردی حاصل از اکسی‌توسین ایجاد کند اما کاهش نسبی را نشان داد.

۳) اثر تزریق یوهمبین در هسته لوکوس سرولئوس بر بی دردی ناشی از اکسی توسین



نمودار شماره۲: اثر تزریق نالوکسان(۳nmol/۱µl) در هسته لوکوس سرولئوس بر بی‌دردی ناشی از اکسی‌توسین (۳nmol/۲µl) در دو تست صفحه داغ و پس کشیدن دم. گروه نالوکسان+اکسی‌توسین در تست صفحه داغ با (P*<۰/۰۵) اختلاف معنی داری با گروه سالین+اکسی‌توسین نشان می دهد، در تست پس کشیدن دم نالوکسان نتوانست تاثیر معنی داری بر بی‌دردی حاصل از اکسی‌توسین ایجاد کند اما کاهش نسبی را نشان داد.



نمودار شماره۳: مقایسه اثر تزریق یوهمبین (۳/۳µg/۲µl) در هسته لوکوس سرولئوس بر بی دردی ناشی از اکسی توسین (۳nmol/۲µl) در دو تست صفحه داغ و پس کشیدن دم. این دو گروه در تست صفحه داغ با (P**<۰/۰۱) و در تست پس کشیدن دم با (P***<۰/۰۰۱) اختلاف معنی دار دارند.

نمودارشماره ۳ نشان دهندهٔ مقایسه بین گروه دریافت کننده یوهمبین+اکسی توسین با گروه سالین+اکسی توسین است. گروه یوهمبین+ اکسی‌توسین با سالین+اکسی توسین در تست صفحه داغ با (P**<۰/۰۱) و در تست پس کشیدن دم با (P***<۰/۰۰۱) اختلاف معنی دار دارند.

۴)اثر تزریق توام یوهمبین و نالوکسان در هسته لوکوس سرولئوس بر بی دردی ناشی از اکسی توسین

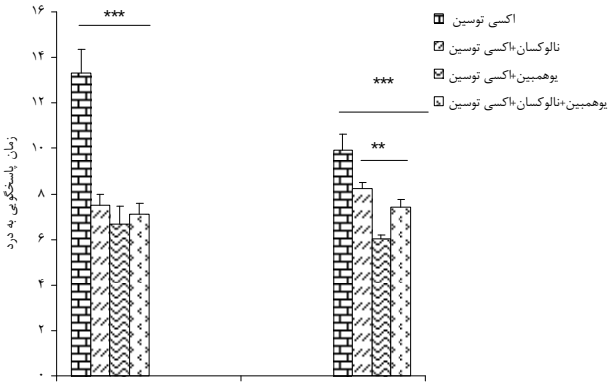
در نمودار شماره ۴ مقایسه اثر تزریق اکسی‌توسین در هسته لوکوس سرولئوس در حضور و عدم حضور نالوکسان و یوهمبین و تزریق توام آنها مشاهده می‌شود. همچنانکه در این نمودار نشان داده شده گروه یوهمبین+ نالوکسان+اکسی توسین با گروه دریافت کننده هر یک از آنتاگونیستها (نالوکسان یا یوهمبین) پیش از اکسی توسین در تست صفحه داغ اختلاف معنی داری را ایجاد نکرده است. ولی در تست پس کشیدن دم گروه دریافت کننده توام دو آنتاگونیست با گروه یوهمبین+اکسی توسین با (P**<۰/۰۱) اختلاف معنی دار دارد.

همچنین مقایسه گروه یوهمبین+ نالوکسان+اکسی توسین با گروه اکسی توسین به تنهایی در هر دو تست، صفحه داغ با (P***<۰/۰۰۱) و پس کشیدن دم با (P**<۰/۰۱) با هم متفاوتند. نتایج به دست آمده مؤید آن است که حضور هر دو آنتاگونیست در کنار هم نقش تعدیلی برای ممانعت از اثر بی دردی ناشی از اکسی توسین نشان می‌دهند.

بحث

در این تحقیق به منظور بررسی اثر ضد دردی هورمون اکسی توسین در هسته لوکوس سرولئوس دوز ۳nmol/۲µl به درون این هسته تزریق شد. نتایج نشان داد که اکسی توسین باعث افزایش زمان پاسخ به محرکهای حرارتی در دو تست صفحه داغ و پس کشیدن دم می‌شود. مؤید این نتایج گزارشی است که نشان داده است تزریق اکسی توسین در بطن‌های مغزی میزان تحمل نسبت به محرکهای حرارتی و مکانیکی را نیز افزایش می‌دهد[19]. همچنین نتایج مشابهی از تزریق اکسی توسین در هسته رافه و PAG بدست آمده است. این نتایج نشان می‌دهند که اکسی توسین در مغز اثرات ضد دردی دارد[11,34].

هسته لوکوس سرولئوس از مراکز مغزی دارای گیرنده‌های اوپیوئیدی است[21]. پس به منظور بررسی تداخل اکسی توسین با سیستم اوپیوئیدی در این هسته از آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیوئیدی قبل از اکسی توسین استفاده شد. براساس



نمودار شماره۴: مقایسه اثر تزریق نالوکسان(۳nmol/۱µl) یوهمبین (۳/۳µg/۲µl) و تزریق توام آنها بر بی‌دردی ناشی از اکسی توسین(۳nmol/۲µl) در دو تست صفحه داغ (Hot plate) و پس کشیدن دم (flick Tail). گروه یوهمبین+ نالوکسان+اکسی توسین با گروه دریافت کننده هر یک از آنتاگونیستها (نالوکسان یا یوهمبین) پیش از اکسی توسین در تست صفحه داغ اختلاف معنی داری را ایجاد نکرده است. ولی در تست پس کشیدن دم گروه دریافت کننده توام دو آنتاگونیست با گروه یوهمبین+اکسی توسین با ($P<۰/۰۱^{**}$) اختلاف معنی دار دارد.

نمودار شماره ۲ تزریق نالوکسان ۳nmol/۲µl قبل از اکسی توسین از ایجاد اثرت ضد دردی اکسی توسین ممانعت به عمل آورده است.

مطالعات نشان داده که نالوکسان اثرات ضد دردی اکسی توسین را که به صورت درون بطنی تزریق شده است مهار می‌کند[19]. همچنین مشاهده شده نالترکسون (یکی دیگر از آنتاگونیستهای گیرنده‌های اوپیوئیدی) نیز اثرات اکسی توسین بر میزان تحمل نسبت به محرکهای حرارتی را از بین می‌برد[3].

در بررسی اثر ضد دردی اکسی توسین در هسته رافه در حضور آنتاگونیستهای اختصاصی گیرنده‌های اوپیوئیدی مشخص گردید که B-Funaltrexamine (آنتاگونیست گیرنده مو) این اثر را مهار می‌کند، ولیNor-Binaltrophimine (آنتاگونیست گیرنده کاپا) وNaltridole (آنتاگونیست گیرنده دلتا) بر زمان پاسخگویی به درد مؤثر نیستند. پس اکسی توسین در هسته رافه اثر ضد دردی خود را به واسطه گیرنده‌های مو انجام می‌دهد[34]، و در هسته PAG مشخص شد که گیرنده‌های مو و کاپا در این اثر دخیل هستند ولی گیرنده دلتا در آن نقش ندارد[11].

هسته لوکوس سرولئوس دارای تعداد زیادی گیرنده آلفا-۲ آدرنرژیک است [29]. در ادامه این تحقیق به منظور بررسی تداخل اثر اکسی توسین با سیستم آلفا-۲ آدرنرژیک در این هسته یوهمبین آنتاگونیست این گیرنده پیش از اکسی توسین تزریق شد. همان طور که در نمودار شماره ۳ مشاهده شد یوهمبین هم مانند نالوکسان توانست از اثر ضد دردی اکسی توسین ممانعت به عمل آورد. این نتایج احتمال نوعی تعامل بین گیرندهای آلفا-۲ و اکسی توسین را در پدیده درد ایجاد می‌کند وممکن است در حضور یوهمبین دسترسی اکسی توسین به گیرنده‌ها محدود شده باشد. در زمینه تداخل اثر اکسی توسین با سیستم آلفا-۲ آدرنرژیک شواهدی وجود دارد، بطور مثال مشخص شده که اثر اکسی توسین بر فعالیتهای قلبی-عروقی و حرکتی از طریق گیرنده‌های آلفا-۲ صورت می‌گیرد[28]، و درمان مزمن با اکسی توسین میزان پاسخگویی گیرنده‌های آلفا-۲ را در هسته لوکوس سرولئوس افزایش می‌دهد[9].

در خصوص مکانیسم احتمالی این تداخل اثر اطلاعات چندانی در دست نیست اما به نظر می‌رسد که فراوانی وجود گیرنده‌های اکسی توسین در هسته لوکوس سرولئوس [32] یک عامل کلیدی است. میتوان چنین فرض کرد که اکسی توسین در فعال نمودن گیرنده‌های آلفا-۲ نقش مهمی دارد. زیرا اثر ضد دردی اکسی توسین در این مطالعه دقیقا شبیه مطالعه‌ای است که نشان داده است کلونیدین آگونیست گیرنده آلفا-۲ اثر ضد دردی در هسته لوکوس سرولئوس دارد[10,22].

در مرحله پایانی این آزمایشات تجویز توام هر دو آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیوئیدی (نالوکسان) (۳nmol/۱µl) و آلفا-۲ آدرنرژیک (یوهمبین) (۳/۳µg/۲µl) درون هسته لوکوس سرولئوس صورت گرفت(نمودار۴). براساس پیش فرض انتظار می‌رفت که در حضور هر دو آنتاگونیست اثرات ضد دردی اکسی توسین به میزان بیشتری نسبت به هرکدام به تنهایی کاهش یابد به این معنی که دو آنتاگونیست اثر سینرژیک داشته باشند، ولی این نتیجه حاصل نشد. علت این نتایج شاید مربوط به تداخل و همپوشانی بین گیرنده‌های اوپیوئیدی و آلفا-۲ آدرنرژیک باشد. مطالعات اخیر نشان داده که گیرنده‌های آلفا-۲

و مو از نظر فیزیکی با هم در ارتباط هستند و مجموعه آنها را می‌توان از نورونهای دارای هر دو سیستم جدا کرد. این تداخل عمل بین آنها را می‌توان از طریق اضافه کردن یک لیگاند اختصاصی برای هر دو سیستم و نه دو لیگاند برای دو سیستم (به صورت مجزا) افزایش داد[17]. این اثر ممکن است بدلیل تغییر ساختاری باشد که این مجموعه در برابر گیرنده‌های اختصاصی خود انجام می‌دهد. پس این احتمال وجود دارد که شاید اکسی توسین بتواند به عنوان یک لیگاند برای هر دو سیستم به طور همزمان عمل کند و احتمالاً اکسی توسین به واسطه مجموعه این گیرنده‌ها اثر ضد دری خود را اعمال می‌کند.

منابع

[۱] برفی نژاد نداء، کسمتی مهناز، بررسی اثر ضد دردی عصاره آبی بابونه در حضور و غیاب هورمونهای جنسی در موش کوچک آزمایشگاهی نر و ماده بالغ. ***خلاصه مقاله چهارمین همایش علمی سالیانه انجمن بررسی و مطالعات درد در ایران***(۱۳۸۳)، ۶۱.

[۲] وردی جواد، معصومه ثابت کسائی، بررسی اثرات ضد دردی عصاره آبی بذر گیاه مرزه در موش صحرایی نر. ***فیزیولوژی و فارماکولوژی***. (۸ ۱۳۸۳) ۲۰۷ تا ۲۱۱.

[3] Arletti R, Benelli A, Bertolini A, Influence of oxytocin on nociception and morphine antinociception**.** ***Neuropeptides*** 24 (1993) 125-129.

[4] Barberis C, Tribollet E, Vasopressin and oxytocin receptors in the central nervous system. ***Crit Rev Neurobiol*** 10 (1996) 119-154.

[5] Brown DC, Perkowski S, Oxytocin content of the cerebrospinal fluid of dogs and its relationship to pain induced by spinal cord compression**.** ***Vet Surg*** 27 (1998) 607-611.

[6] Carter CS, Devries AC, Getz LL, Physiological substrates of mammalian monogamy: the prairie vole model. ***Neurosci Biobehav R*** 19 (1995) 303-314.

[7] Crowley WR, Rodriguez-Sierra JF, Komisaruk BR, Analgesia induced by vaginal stimulation in rats is apparently independent of a morphine-sensitive process. ***Psychopharmacology*** 54 (1977) 223-225.

[8] De Wied D, Gaffori O, Burbach JP, Kovacs GL, Van JM, Structure activity relationship studies with C-terminal fragments of vasopressin and oxytocin on avoidance behaviors of rats. ***J Pharmacol Exp Ther*** 241 (1987) 268-274.

[9] Díaz-Cabiale Z, Petersson M, Narváez J, Systemic oxytocin treatment modulates α2-adrenoceptors in telencephalic and diencephalic regions of the rat. ***Brain Res*** 2 (2000) 421-425.

[10] Dickenson A, Besson JM, The Pharmacology of Pain. Handbook of Experimental Pharmacology 130 1997, p. 479-480.

[11] Ge Y, Lundeberg T, Yu LC, Blockade effect of mu and kappa opioid antagonists on the antinociception induced by intra-periaqueductal grey injection of oxytocin in rats. ***Brain Res*** 927 (2002) 204–207.

[12] Gimpl G, Fahrenholz F, The Oxytocin Receptor System: Structure, Function, and Regulation. ***Physiol Rev***81 (2001) 629-683.

[13] Henry JP, Wang S, Effects of early stress on adult affiliative behavior. ***Psychoneuroendocrino*** 23 (1998) 863-875.

[14] Madrazo I, Franco-Bourland RE, Leon-Meza VM, Intraventricular somatostatin-14, arginine casopressin, and oxytocin: analgesic effect in a patient with intractable cancer pain. ***Appl Neurophysiol*** 50 (1987) 427–431.

[15] Insel TR, Oxytocin, a neuropeptide for affiliation: evidence from behavioral, receptor autoradiographic, and comparative

studies. ***Psychoneuroendocrino*** 17 (1992) 3-35.

[16] Jenkins JS, Ang VTY, Hawthorn J, Vasopressin, oxytocin and neurophysins in the human brain and spinal cord. ***Brain Res*** 16(1984) 111-117.

[17] Jordan BA, Gomes I, Riso C, Functional interactions between opioid and adernergic receptors. ***Mol Pharmacol*** 64 (2003) 1317-1324.

[18] Kendrick KM, Da Costa AP, Broad KD, Ohkura S, Guevara R, Levy F, Keverne EB, Neural control of maternal behaviour and olfactory recognition of offspring. ***Brain Res Bull*** 44 (1997) 383-395.

[19] Lian G, Yu LC, Involvement of opioid receptors in the oxytocin-induced antinociception in the central nervous system of rats. ***Regul Peptides*** 120 (2004) 53-58.

[20] McCarthy MM, Altemus DM, Central nervous system actions of oxytocin and modulation of behavior in humans. ***Mol Med Today*** 3 (1997) 269-275.

[21] Millan MJ, Descending control of pain. ***Prog Neurobiol*** 66 (2002) 355–474.

[22] Millan MJ, The role of descending noradrenergic and serotoninergic pathways in the modulation of nociception: focus on receptor multiplicity. In: Dickenson, A., Besson, J.M. (Eds.), ***The Pharmacology of Pain.*** Handbook of Experimental Pharmacology: 130 1997, p. 385–446.

[23] Murphy MR., Seckl JR, Burton S, Checkley SA, Changes in oxytocin and vasopressin secretion during sexual activity in men. ***J Clin Endocr Metab*** 65 (1987) 738-741.

[24] Nelson EE, Panksepp J, Brain substrates of infant-mother attachment: contributions of opioids, oxytocin, and norepinephrine. ***Neurosci Biobehav Rev*** 22 (1998) 437-452.

[25] Nishioka T, Anselmo FJ, Li P, Callahan MF, Morris M, Stress increases oxytocin release within the hypothalamic paraventricular nucleus. ***Brain Res*** 781 (1998) 56-60.

[26] Olson BR, Drutarosky MD, Stricker EM, Verbalis JG, Brain oxytocin receptor antagonism blunts the effects of anorexigenic treatments in rats: evidence for central oxytocin inhibition of food intake. ***Endocrinol*** 129 (1991) 785-791.

[27] Paxinos G, Watson C, The rat brain in stereotaxcic coordinattes. 4nd Edition: Academic Press, 1998.

[28] Petersson M, Diaz-Cabiale Z, Narváez J, Oxytocin increases the density of high affinity α_2-adrenoceptors within the hypothalamus, the amygdala and the nucleus of the solitary tract in ovariectomized rats. ***Brain Res*** 2 (2005) 234-239.

[29] Rita J, Gary S, Physiological and anatomical determinants of locus coeruleus discharge: behavioral and clinical implications. ***Neuropsychophamacol*** 50 (2000).

[30] Stricker EM, Verbalis JG, Interaction of osmotic and volume stimuli in regulation of neurohypophysial secretion in rats. ***Am J Physiol-Reg I*** 250 (1986) 267-275.

[31] Sun SD, Luo Y, Zhao XW, Lei YP, Zhang Q, Effects of microinjection of clonidine into nucleus tractus solitarii on atrial natriuretic factor in rats. ***Sheng Li Xue Bao*** 43 (1991)

[32] Tribollet E, Dubois DM, Dreifuss JJ, Barberis C, Jard S, Oxytocin receptors in the central nervous system. Distribution, development, and species differences. ***Ann NY Acad Sci*** 652 (1992) 29-38.

[33] Uvnas MK, Oxytocin may mediate the benefits of positive social interaction and emotions. ***Psychoneuroendocrinol*** 23 (1998) 819-835.

[34] Wang JW, Lundeberg T, Yu LC, Antinociceptive role of oxytocin in the nucleus raphe magnus of rats, an involvement of mu opioid receptor. ***Regul Peptides*** 115 (2003) 153–159