



Effect of zinc chloride on anxiety and its interaction with the androgenic system in adult male rats

Negar Kayedi Bakhtiari, Hooman Eshagh Harooni*, Ahmad Ali Moazedi, Mohammad Mohammadi

Dept. of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

Received: 13 Jan 2014

Accepted: 18 Jun 2014

Abstract

Introduction: Previous studies have shown that zinc deficiency and castration could increase anxiety, while administration of zinc or testosterone has anxiolytic effects. This study examined the effect of zinc chloride administration on anxiety in gonadectomized male rats.

Methods: For this purpose, adult male Wistar rats (weighing 200-250 g) were castrated. One month after surgery, different doses of zinc chloride (0, 5, 7.5 and 10 mg/kg; IP) were administered 30 min before the elevated plus maze test. Time spent and the number of entries in open arms was recorded as measures of anxiety and the number of closed arm entries recorded as locomotor activity.

Results: 1) Zinc chloride significantly decreased the time spent and the number of entries in the open arms in gonadectomized rats compared to the control group. 2) Zinc chloride administration could not decrease anxiety, even in the testosterone pretreated gonadectomized male rats.

Conclusion: Our findings showed that zinc significantly increased anxiety in gonadectomized rats. Since our previous findings showed that zinc chloride decreased the anxiety level in intact male rats, it seems that zinc chloride effects on anxiety would change in relation to the presence or absence of the gonads and it might interact with androgenic system through an effect on the testis.

Key words: Androgens, anxiety, gonadectomized male rats, zinc chloride

* Corresponding author e-mail: harooni@scu.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

تداخل اثر کلراید روی و سیستم آندروژنی بر میزان اضطراب در موش‌های صحرائی نر بالغ

نگار کایدی بختیاری، هومن اسحق هارونی*، احمد علی معاضدی، محمد محمدی
گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز
دریافت: ۲۳ دی ۹۲ پذیرش: ۲۸ خرداد ۹۳

چکیده

مقدمه: در تحقیقات قبلی نشان داده شده که کمبود روی و گنادکتومی می‌تواند باعث افزایش اضطراب شود در حالیکه تجویز روی و تستوسترون اثرات ضداضطرابی دارند. لذا در این تحقیق اثر کلراید روی بر رفتار اضطرابی در موش‌های گنادکتومی شده مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: بدین منظور موش‌های صحرائی نر بالغ نژاد ویستار (به وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) گنادکتومی شدند. یک ماه پس از جراحی، مقادیر مختلف کلراید روی (۰، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی) ۳۰ دقیقه قبل از آزمون ماز بعلاوه مرتفع (EPM) تزریق شدند. مدت زمان سپری شده و تعداد ورود به بازوهای باز به عنوان معیاری از اضطراب و تعداد ورود به بازوهای بسته به عنوان معیار فعالیت حرکتی ثبت گردید.

یافته‌ها: (۱) کلراید روی مدت زمان سپری شده و تعداد ورود به بازوهای باز را در موش‌های نر گنادکتومی شده بطور معنی‌دار کاهش داد. (۲) در موش‌های گنادکتومی شده با وجود تزریق تستوسترون روی از مسیر طبیعی خود نمی‌تواند باعث کاهش اضطراب گردد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهند که کلراید روی میزان اضطراب را در موش‌های گنادکتومی شده به شدت افزایش می‌دهد. از آنجا که نتایج بدست آمده از مطالعه قبلی ما مشخص کرد که کلراید روی در موش‌های صحرائی سالم، اضطراب را کاهش می‌دهد، بنظر می‌رسد نقش کلراید روی در روند اضطراب می‌تواند متناسب با حضور یا عدم حضور گنادها تغییر کند و روی ممکن است از طریق اثر بر گنادها با سیستم آندروژنی تداخل ایجاد کند.

واژه‌های کلیدی: اضطراب، آندروژن‌ها، کلراید روی، گنادکتومی

مقدمه

فردی دیده می‌شود و به عنوان پاسخی سازش یافته تلقی می‌گردد اما اگر به صورت مزمن ادامه یابد می‌تواند سبب اختلال در زندگی روز مره افراد گردد و به عنوان بیماری تلقی گردد [۹]. در تعاریف روان شناسی، اضطراب اختلالی است که با افزایش احساس‌های ناخوشایند و غیر قابل کنترل نگرانی و دلواپسی در مورد مسائل روزانه همراه می‌باشد. ۱۸٪ افراد در طول یک سال و ۲۵٪ افراد در طول تمام عمر خود تحت تأثیر اختلالات اضطرابی قرار می‌گیرند [۷].

روی جزء فلزات کمیاب در بدن است که برای بلوغ و رشد و فعالیت مغز لازم و ضروریست [۲۳]. روی از طریق گیرنده‌های گابا و گلوتامات باعث کاهش غلظت خارج سلولی

اضطراب مجموعه پیچیده‌ای از ویژگی‌های رفتاری و روانی است که یکی از شایع‌ترین اختلالات روانی محسوب می‌شود [۵]. اضطراب حالتی است که فرد خود را برای یک موقعیت منفی در آینده آماده می‌کند [۱۱]. اگرچه اضطراب به عنوان بخشی از زندگی طبیعی هر انسان، در حد اعتدال در هر

harooni@scu.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

1.Elevated plus-maze

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

همکاران (۲۰۰۲) بیان داشته‌اند که مقدار بالایی از دی هیدروتستوسترون اثر ضد اضطرابی بیشتری نسبت به مقدار بالای استرادیول بنزوات دارد این آزمایشات نشان داده است که فعالیت تستوسترون نیاز به احیا شدن توسط آنزیم ۵-آلفا ردوکتاز دارد. البته گزارشاتی نیز درباره اثرات اضطراب زایی تستوسترون وجود دارد. برای مثال فرای (۲۰۰۱) بیان داشته است که تستوسترون باعث افزایش پرخاشگری و پاسخ‌های اضطراب و ترس گردیده که به واسطه فعالیت گیرنده های 5-HT_{1A} و 5-HT_{2A} انجام می‌گیرد [۲]. طبق مطالعات صورت گرفته، مهارکننده بازجذب مجدد سروتونین (SSRIs) باعث افزایش تستوسترون بزاقی در مردان و زنان می‌شود. مردان نسبت به زنان، میانگین سطح تستوسترون بزاقی بالاتری در هنگام صبح و غروب دارند [۳].

حیدر اقلو^۴ و همکاران (۱۹۸۴) نشان دادند که کمبود روی، خروجی گنادوتروپین های هیپوفیز و تولید آندروژن ها را کاهش می‌دهد [۵]. مطالعات مختلفی در زمینه ارتباط روی و سیستم آندروژنی صورت گرفته است. اما ارتباط احتمالی آنها در رفتارهای شبه اضطرابی تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است. از آنجا که در کارهای قبلی اثرات ضد اضطرابی روی در موش‌های سالم را مشاهده نمودیم در این مطالعه به اثرات روی بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش‌های گنادکتومی شده پرداختیم. فرضیه، این بود که احتمالاً روی با اثرات ضد اضطرابی خود می‌تواند افزایش اضطراب ناشی از گنادکتومی را بهبود داده و به حد طبیعی برساند و یا فراتر از آن باعث کاهش معنی دار اضطراب گردد.

مواد و روش ها

در آزمایش‌های انجام شده از موش های صحرایی آزمایشگاهی نر بالغ، نژاد ویستار (۲۵۰-۲۰۰ گرم) که از مرکز تکثیر دانشگاه جندی شاپور اهواز خریداری شده بود، استفاده گردید. حیوانات تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری و از غذای فشرده ساخت شرکت کابیله واقع

گابا و افزایش گلوتامات می‌گردد، بنابراین کاهش روی و عدم تنظیم این گیرنده‌ها، باعث افزایش اضطراب و افسردگی می‌گردد [۱۷]. موش‌هایی که در رژیم غذایی‌شان کمبود روی وجود دارد رفتارهای اضطراب و افسردگی را طی تست شنای اجباری از خود نشان می‌دهند [۲۵]. روی به عنوان یک نورومدولاتور درون زاء، گیرنده های مهمی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که شامل GABA، NMDA و AMPA/KAINAT می‌باشد [۲۰].

از سوی دیگر لوند^۱ و همکارانش (۲۰۰۱) نشان دادند که تزریق تستوسترون و متابولیت های آن سبب کاهش اضطراب در موش های نر بالغ می‌گردد [۱۰]. تزریق فلوتاماید که بلوک کننده گیرنده آندروژنی است تا ۸۰ درصد نمی‌تواند بر روی غلظت تستوسترون پلازما تأثیر بگذارد، ولی توانسته است مانع اثرات ضد اضطرابی تستوسترون گردد [۶]. بنابراین حداقل بخشی از فعالیت ضد اضطرابی تستوسترون از طریق گیرنده های آندروژنی میانجی می‌شود هر چند ممکن است سیستم‌های نوروترانسمیتری از جمله گابا و گلوتامات نیز اثرات تستوسترون را میانجی گری نمایند [۴]. برای مثال آبی کی^۲ و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که پیکروتوکسین و بیوکولین که آنتاگونیست های گیرنده گابا هستند اثرات ضد اضطرابی تستوسترون را از بین می‌برند. اثرات ضد اضطرابی هورمون تستوسترون بوسیله متابولیت های آن نیز صورت می‌پذیرد، مثلاً هورمون تستوسترون به وسیله آنزیم آروماتاز به استروژن و آنزیم ۵-آلفا ردوکتاز به دی هیدرو تستوسترون (DHT)^۳ تبدیل می‌شود و مشاهده شد که استروژن نیز خاصیت ضد اضطرابی دارد [۲۲]. تحقیقات نشان داده است که آندروژن ها روی بخش‌های مختلف سیستم عصبی مانند هیپوکامپ و آمیگدال تأثیر می‌گذارند و سبب کاهش رفتار اضطرابی می‌گردند [۲].

آزمایشات زیادی نشان داده‌اند که ترشح و آزادسازی تستوسترون، در هنگام مقاربت‌های جنسی، اضطراب و ترس را در موش نر کاهش می‌دهد. در همین راستا آبی کی و

4. Selective serotonin reuptake inhibitors
5. Hidrioglu

1. Lund
2. Aikey
3. Dihydro testosterone

دستگاه ماز بعلاوه مرتفع به عنوان یک مدل غیر شرطی جهت تولید و سنجش اضطراب در جوندگان محسوب می‌گردد. اجزای تشکیل دهنده این دستگاه شامل دو بازوی باز و دو بازوی بسته مقابل هم می‌باشند. هر چهار بازو دارای سقف باز می‌باشند. طول هر بازو ۴۰ cm و پهنای آنها ۱۰ cm می‌باشد. بازوهای بسته دارای دیواره ای به ارتفاع ۴۰ cm می‌باشند و در مرکز نیز مربع ۱۰ cm در ۱۰ بازوها را به هم مرتبط می‌کند. دستگاه به میزان ۵۰ cm از سطح زمین ارتفاع داشته و ۱/۵ متر بالاتر از آن یک لامپ ۲۰ وات با پردازش نوری یکنواخت قرار گرفته است. اساس کار دستگاه EPM ترس حیوان با دیدن ارتفاع و رفتن به سمت بازوی بسته می‌باشد که هرچه میزان ورود و مدت زمان سپری شده در بازوی بسته بیشتر باشد نشان دهنده افزایش اضطراب در حیوان و بر عکس هرچه تعداد ورود و مدت زمان سپری شده در بازوی باز بیشتر باشد نشان دهنده کاهش اضطراب حیوان می‌باشد. در ابتدای آزمون هر حیوان به گونه ای درون دستگاه قرار داده می‌شد که سر آن به طرف بازوی بسته قرار داشته باشد و سپس به حیوان اجازه داده می‌شد به مدت ۵ دقیقه آزادانه در دستگاه گردش کند. جهت جلوگیری از یادگیری هر حیوان تنها یک بار تست می‌گردید [۱۸]. پس از هر آزمون دستگاه توسط پنبه و الکل تمیز و خشک می‌گردید تا آثار به جا مانده از هر حیوان در آزمون حیوان بعدی تداخلی ایجاد نکند. در این آزمایش شاخص‌های اضطراب سنجی شامل مدت زمان ماندن در بازوهای باز و بسته و تعداد دفعات ورود به بازوهای باز بودند. تمام حیوانات در فاصله زمانی ۹ صبح تا ۲ ظهر مورد تست اضطراب قرار گرفتند و شرایط محیط آزمون برای همه آنها یکسان فراهم گردید. سپس در زمان تست اضطراب هر حیوان به مدت ۵ دقیقه در دستگاه ماز بعلاوه مرتفع قرار گرفت و OAT % و OAE % به عنوان شاخصی برای اضطراب و CAE % به عنوان شاخص فعالیت حرکتی در نظر گرفته شد. برای ارزیابی آماری داده های آزمایش از نرم افزار instat روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) یا آزمون t استفاده گردید. آزمون توکی برای بررسی اختلاف بین گروه های مختلف مورد استفاده قرار گرفت. در تمامی آزمایش‌های انجام شده سطح معنی داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

در شهرضا و آب معمولی شهر تغذیه شدند. موش های صحرایی بصورت تصادفی در ۱۰ گروه آزمایشی و در هر گروه تعداد ۱۰ سر موش تقسیم گردیدند که به شرح زیر مورد ارزیابی قرار گرفتند. گروه کنترل شامل گروه سالم و دریافت کننده روغن کنجد و سالین، گروه شاهد گنادکتومی شامل گروه سالم و تجربه کننده شرایط جراحی مشابه (بدون خارج شدن گنادها) و دریافت کننده روغن کنجد-سالین، گروه گنادکتومی شامل گروه گنادکتومی شده و دریافت کننده روغن کنجد-سالین، گروههای گنادکتومی شده و دریافت کننده مقادیر مختلف کلراید روی شامل ۱- گروه دریافت کننده کلراید روی ۵mg/kg + روغن کنجد ۲- گروه دریافت کننده کلراید روی ۷/۵ mg/kg + روغن کنجد ۳- گروه دریافت کننده کلراید روی ۱۰ mg/kg + روغن کنجد، گروه گنادکتومی شده و دریافت کننده تستوسترون شامل گروه دریافت کننده تستوسترون ۱ mg/kg + سالین، گروه گنادکتومی شده و دریافت کننده تستوسترون و کلراید روی شامل گروه دریافت کننده تستوسترون ۱ mg/kg + کلراید روی ۵mg/kg، گروه سالم و دریافت کننده فلوتاماید (بلوک کننده گیرنده های آندروژنی) شامل گروه دریافت کننده فلوتاماید ۵ mg/kg + سالین، گروه سالم و دریافت کننده فلوتاماید + کلراید روی شامل گروه دریافت کننده فلوتاماید ۵ mg/kg + کلراید روی ۵ mg/kg.

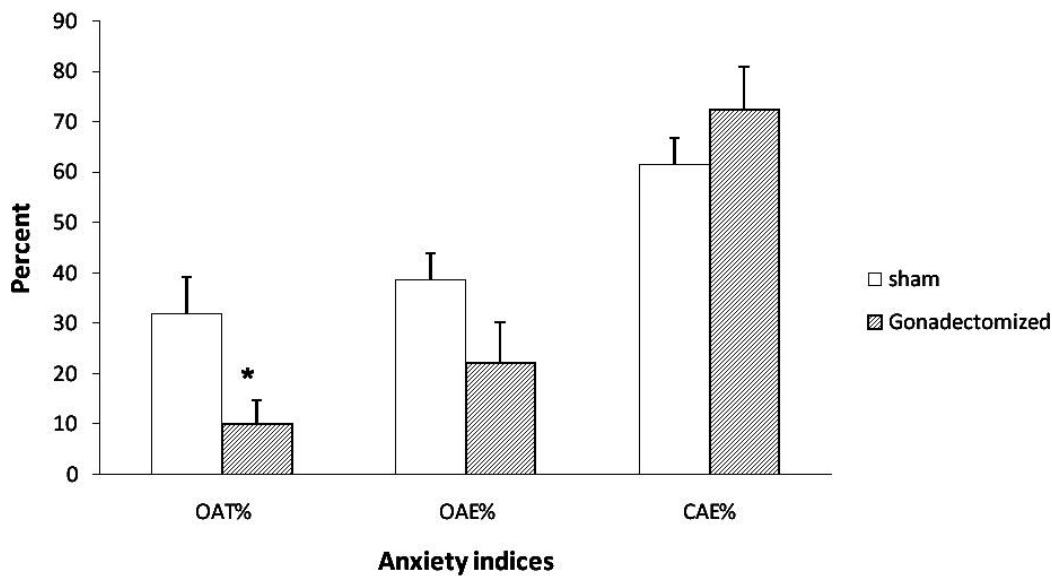
در گروه های جراحی موش‌های نر بالغ جهت بی‌هوشی از دی اتیل اتر ساخت شرکت پارس بیوشیمی که بصورت استنشاقی مورد مصرف قرار گرفت، استفاده گردید. جهت برداشتن بیضه‌ها پس از ضدعفونی محل جراحی، ابتدا پوست کیسه بیضه را شکافته و بعد از بستن رگ‌های خونی بوسیله نخ بخیه جذبی، بیضه‌ها به صورت دو طرفه جدا گردیدند. برای ضد عفونی محل جراحی از محلول بتادین و الکل استفاده گردید. موش های جراحی شده پس از گذشت یک ماه در خانه حیوانات، تستوسترون یا حلال آن روغن کنجد را ۶۰ دقیقه [۸] و مقادیر مختلف کلراید روی و یا حلال آن سالین را ۳۰ دقیقه قبل از تست اضطراب دریافت نمودند [۱۴]. در این مطالعه رفتاری، اثرات حذف غدد جنسی و کلراید روی بر شاخص‌های اضطراب موش های سالم و فاقد غدد جنسی، در آزمون ماز بعلاوه مرتفع مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

یافته ها

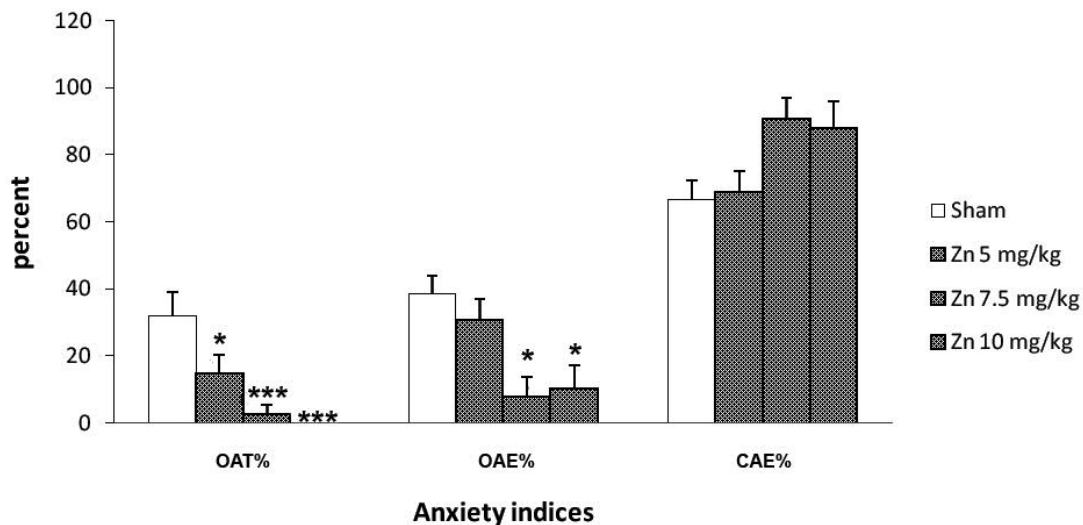
به بازوی باز ($22/16 \pm 8/1$) نیز گردید ولی این کاهش معنی دار نبود (شکل ۱). این نتایج نشان داد که گنادکتومی سبب کاهش معنی دار درصد زمان حضور در بازوی باز و یا به عبارتی افزایش میزان اضطراب در موش های صحرایی نر بالغ شده است. در نتیجه می توان گفت که کاهش تستوسترون طی ۴ هفته پس از جراحی گنادکتومی، سبب افزایش اضطراب در موش های گنادکتومی می گردد.

شکل ۲ اثر مقادیر مختلف کلراید روی را بر

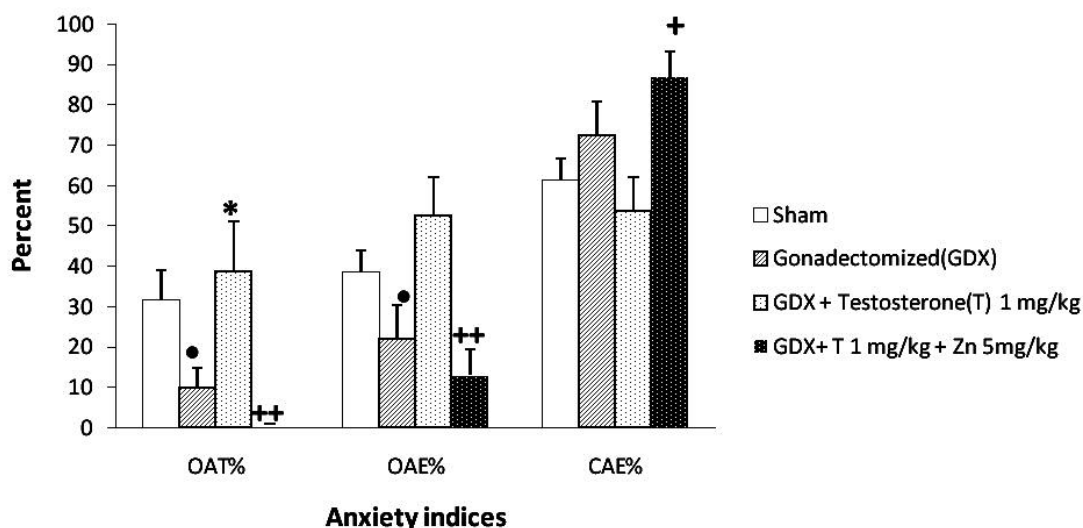
در آزمایش اول پس از برداشتن بیضه ها و دریافت سالیین شاخص های اضطراب مورد بررسی قرار گرفتند. بررسی آماری نشان می دهد که گروه گنادکتومی ($4/74 \pm 10/07$) شده در مقایسه با گروه شاهد گنادکتومی (sham: $7/39 \pm 31/77$) سبب کاهش معنی دار در OAT% ($P < 0.05$) بدون اثر بر فعالیت حرکتی شده است. همچنین سبب کاهش تعداد ورود



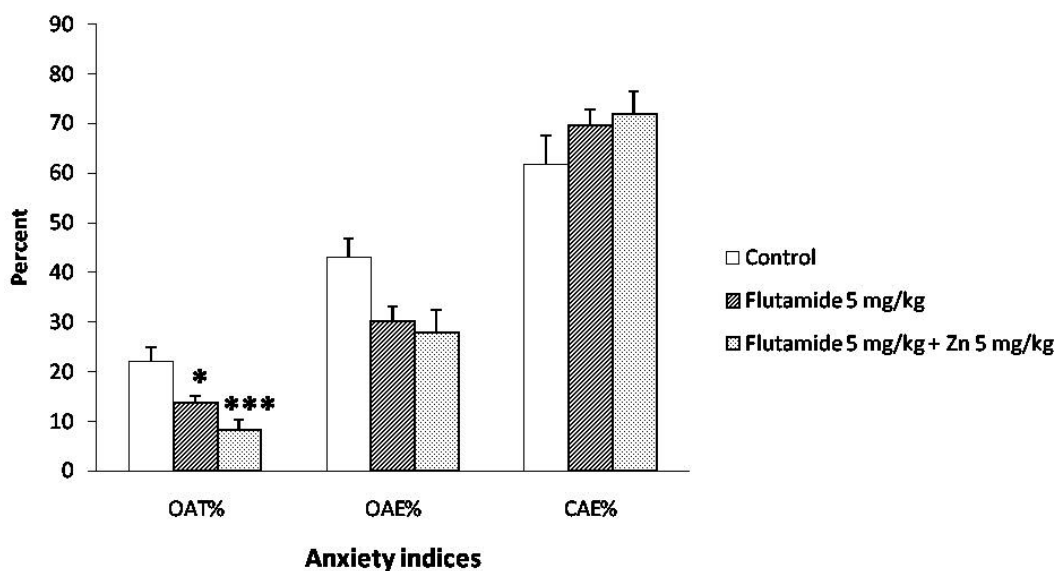
شکل ۱- تاثیر گنادکتومی بر شاخص های اضطراب و فعالیت حرکتی: * نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) در مقایسه با گروه شاهد گنادکتومی (sham) است. OAT%=درصد زمان حضور در بازوهای باز، OAE%=درصد تعداد ورود به بازوهای باز، CAE%=درصد تعداد ورود به بازوهای بسته.



شکل ۲- اثر مقادیر مختلف کلراید روی بر شاخص های اضطراب و فعالیت حرکتی در موش های گنادکتومی شده. * و ** نشان دهنده اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه شاهد (به ترتیب در سطح $P < 0.05$ و $P < 0.001$) می باشد. OAT%=درصد زمان حضور در بازوهای باز، OAE%=درصد تعداد ورود به بازوهای باز، CAE%=درصد تعداد ورود به بازوهای بسته.



شکل ۳- بررسی تداخل اثر تستوسترون و کلراید روی بر شاخص‌های اضطراب و فعالیت حرکتی در موش‌های گنادکتومی شده: نمودارها نشان دهنده اثر اضطراب زایی کلراید روی علیرغم تزریق تستوسترون در موش‌های گنادکتومی می‌باشد. که نشان دهنده نقش مهم گنادها می‌باشد. ++ نشان دهنده سطح معنی داری در مقایسه با گروهی است که گنادکتومی شده و تستوسترون دریافت کرده (GDx+T1mg/kg) ($P < 0.01$) و * نشان دهنده معنی داری در مقایسه با گروه گنادکتومی ($P < 0.05$) و • نشان دهنده معنی داری در مقایسه با گروه شاهد ($P < 0.05$) می‌باشند. OAT% = درصد زمان حضور در بازوهای باز، OAE% = درصد تعداد ورود به بازوهای باز، CAE% = درصد تعداد ورود به بازوهای بسته.



شکل ۴- بررسی تداخل اثر فلوتاماید و کلراید روی بر شاخص‌های اضطراب و فعالیت حرکتی در موش‌های صحرایی: نمودارها نشان دهنده اثر اضطراب زایی کلراید روی در زمان بلوک شدن گیرنده آندروژنی و نشان دهنده نقش مهم تستوسترون می‌باشد. * و *** نشان دهنده اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه کنترل (به ترتیب در سطح $P < 0.05$ و $P < 0.001$) می‌باشند. OAT% = درصد زمان حضور در بازوهای باز، OAE% = درصد تعداد ورود به بازوهای باز، CAE% = درصد تعداد ورود به بازوهای بسته.

دریافت کننده کلراید روی $7/5 \text{ mg/kg}$ ($2/78 \pm 2/54$) و 10 و $10/87 \pm 0/65$) و شاهد گنادکتومی در OAT% مشاهده گردید ($P < 0/001$). مقایسه گروه‌های دریافت کننده کلراید روی (5 و $7/5$ و 10 mg/kg) و گروه شاهد نشان می‌دهد که کلراید روی در مقدار (10 mg/kg و $7/5$) سبب کاهش OAE% نسبت به گروه شاهد گردیده است ($P < 0.05$). آنالیز آماری همچنین نشان داد کلراید روی تأثیر

شاخص‌های اضطراب و فعالیت حرکتی در موش‌های گنادکتومی شده نشان می‌دهد (آزمایش دوم). مقایسه گروه‌های دریافت کننده کلراید روی (5 و $7/5$ و 10 mg/kg) و گروه شاهد نشان می‌دهد که کلراید روی در پایین‌ترین مقدار (5 mg/kg) سبب کاهش OAT% ($14/83 \pm 5/48$) نسبت به گروه شاهد ($31/77 \pm 7/39$) گردیده است ($P < 0/05$). همچنین کاهش معنی دار بین گروه‌های

بر اساس منابع قبلی تزریق ۵ mg/kg فلوتاماید باعث ایجاد مدلی از گنادکتومی فارماکولوژیک در موش‌های نر می‌شود. حال سؤال این است که آیا روی اثر مشابه با اثر بر موش‌های گنادکتومی واقعی (آزمایش ۲) خواهد داشت یا باعث بهبود اضطراب خواهد شد. برای پاسخ به این سؤال فلوتاماید ۳۰ دقیقه قبل از کلراید روی بصورت زیر پوستی تزریق شد و ۳۰ دقیقه پس از تزریق درون صفاقی کلراید روی آزمون رفتاری اضطراب انجام گردید. بر اساس انتظار قبلی تزریق فلوتاماید به تنهایی باعث افزایش معنی دار ($1/36 \pm 13/73$) اضطراب ($p < 0.05$) گردید. همچنین آنالیز آماری نشان می‌دهد که تجویز توأم فلوتاماید ۵ mg/kg با کلراید روی ۵ mg/kg بطور معنی داری سبب کاهش OAT ($2/04 \pm 8/32$) در مقایسه با گروه کنترل ($2/85 \pm 22/05$) شد. (شکل ۴) که نشان می‌دهد روی علاوه بر اثر بر گنادها از طریق گیرنده‌های آندروژنی نیز با سیستم آندروژنی تداخل ایجاد می‌کند البته نقش گنادها بسیار قابل توجه تر می‌باشد. همچنین نشان می‌دهد که نبود تستوسترون (چه بصورت نبود گناد و چه بصورت بلوک گیرنده آندروژنی) می‌تواند نقش کلراید روی را در رفتارهای اضطرابی نسبت به موش‌های سالم تغییر دهد. البته تجویز توأم فلوتاماید و روی ۵ mg/kg سبب کاهش OAE % شد اما این کاهش معنی دار نبود. تجویز توأم فلوتاماید با کلراید روی اثر معنی داری بر فعالیت حرکتی نداشتند.

بحث

در این پژوهش تداخل اثر سیستم آندروژنی و روی مورد بررسی قرار گرفت بدین منظور ابتدا از جراحی گنادکتومی و سپس تزریق فلوتاماید جهت حذف اثر سیستم آندروژنی و سپس تداخل اثر کلراید روی بر میزان اضطراب در ماز بعلاوه مرتفع^۱ استفاده شد. نتایج حاکی از افزایش اضطراب در هر دو گروه جراحی گنادکتومی و دریافت کننده فلوتاماید نسبت به گروه‌های کنترلشان می‌باشد. این یافته‌ها با مطالعات قبلی در مورد اثرات گنادکتومی بر شاخص‌های اضطراب همخوانی دارد. بطور مثال خاکپای و همکاران (۱۳۸۵) اثر تستوسترون

معنی داری بر فعالیت حرکتی ندارد. این نتایج نشان می‌دهند کلراید روی در موش‌های گنادکتومی شده (که فاقد گناد هستند و تستوسترون بدن آن‌ها کاهش یافته) اثر اضطراب زایی شدید دارد درحالی‌که تأثیر معنی داری بر فعالیت حرکتی ندارد. این نتایج تداخل اثر روی و سیستم آندروژنی را در رفتار اضطرابی بیان می‌کنند و نشان می‌دهند که اثرات روی در شرایط گنادکتومی عکس اثرات آن در موش‌های دست نخورده است. هدف از انجام آزمایش سوم ایجاد غلظت فیزیولوژیک تستوسترون در پلاسمای موش‌های گنادکتومی شده و بررسی اثر روی بر میزان اضطراب در آن‌ها بود. در این بخش با توجه به اینکه تستوسترون ۱ mg/kg در موش‌های گنادکتومی در کاهش اضطراب و کلراید روی در افزایش اضطراب موثر بودند این مقادیر به صورت توأم به کار برده شدند. تستوسترون ۳۰ دقیقه قبل از کلراید روی تزریق شد و ۳۰ دقیقه پس از تزریق کلراید روی آزمون رفتاری اضطراب انجام گردید. آنالیز آماری نشان می‌دهد که تجویز توأم تستوسترون ۱ mg/kg با کلراید روی ۵ mg/kg به ترتیب و بطور معنی داری سبب کاهش OAT ($0/38 \pm 0/57$) و OAE ($6/36 \pm 13/02$) در مقایسه با گروه دریافت کننده تستوسترون به تنهایی (به ترتیب $12/47 \pm 38/83$ و $9/59 \pm 52/65$) شدند ($P < 0/05$ ، $P < 0/01$). که نشان می‌دهد تزریق تستوسترون نتوانسته جلوی اثر اضطراب زایی کلراید روی را بگیرد. به بیان دیگر نقش کلراید روی در روند اضطراب می‌تواند متناسب با حضور یا عدم حضور گنادها تغییر کند. ظاهراً میزان تستوسترون پلازما از اهمیت کمتری نسبت به وجود گنادها در عملکرد روی برخوردار می‌باشد. روی ممکن است از طریق اثر بر گنادها با سیستم آندروژنی تداخل ایجاد کند، چرا که در موش‌های گنادکتومی شده با وجود تزریق تستوسترون (در نبود گنادها) روی از مسیر طبیعی خود (شبیه آنچه که در موش‌های سالم عمل می‌کند) نتوانست عمل کند. تجویز توأم تستوسترون و کلراید روی اثر معنی داری بر فعالیت حرکتی در مقایسه با گروه دریافت کننده تستوسترون به تنهایی داشت (شکل ۳). هدف از انجام آزمایش چهارم بررسی اثر مهار گیرنده‌های تستوسترون و سپس ارزیابی تزریق روی بر میزان اضطراب بود. فلوتاماید به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های تستوسترون مورد استفاده قرار گرفت.

1. Elevated plus-maze

(۱۳۹۰) در مورد اثر کلرید روی بر میزان اضطراب در موش‌های صحرایی نر بالغ نشان داد که روی باعث کاهش اضطراب و افسردگی در موش‌ها می‌گردد [۱۴]. مطالعات پیشین نشان داده اند که رژیم‌های غذایی فاقد روی می‌توانند سبب ایجاد رفتارهای شبه اضطرابی در موش‌های دست نخورده شوند درحالی‌که به کاربردن مکمل‌های خوراکی روی توانسته‌اند در بهبود اضطراب موثر باشند [۲۴]. این نتایج درست عکس نتایج ما در موش‌های گنادکتومی شده می‌باشد. مطالعات متعدد نشان می‌دهند که روی باعث افزایش میزان تولید تستوسترون در بدن می‌گردد و تداخل این دو سیستم را با هم نشان می‌دهد. در همین راستا پکاری^۳ (۱۹۹۳) گزارش داده است که کمبود روی باعث کم شدن وزن بدن و تولید تستوسترون در بدن موش‌های نر می‌گردد [۱۶]. از طرف دیگر تحقیقات زیادی نشان داده اند که مکمل روی در پاسخ به فعالیت ورزشی، تنها به افزایش مقادیر تستوسترون آزاد منجر می‌گردد [۱۸]. مطالب بیان شده ارتباط سیستم آندروژنی و یون روی را تا حدودی بیان می‌کند. از طرف دیگر افزایش غلظت روی نیز موجب افزایش ۵ آلفا دی هیدرو تستوسترون در بافت پروستات می‌گردد [۱۹]. همچنین وجود انگشت روی (zinc finger) در ساختار گیرنده های استروئیدی، در پاسخ به عملکرد هورمون‌های استروژن و تستوسترون موثر می‌باشد [۱]. با فرض اینکه (حداقل بخشی از) اثرات ضد اضطرابی روی به واسطه اثر بر سیستم آندروژنی میانجی می‌شود، عدم مشاهده اثرات ضد اضطرابی در موش‌های گنادکتومی می‌تواند مورد انتظار باشد. با این حال علت اثرات اضطراب زایی روی در موش‌های گنادکتومی و دریافت کننده فلوتاماید برای ما روشن نیست و نیاز به بررسی بیشتر دارد.

در مجموع می‌توان گفت که نقش کلراید روی در روند اضطراب می‌تواند متناسب با حضور یا عدم حضور گنادها تغییر کند. روی ممکن است از طریق اثر بر گنادها با سیستم آندروژنی تداخل ایجاد کند، چرا که در موش‌های گنادکتومی شده با وجود تزریق تستوسترون (در نبود گنادها) روی از مسیر طبیعی خود (شبه آنچه که در موش‌های سالم عمل می‌کند) نمی‌تواند عمل کند.

بر رفتار ترس در موش‌های صحرایی گنادکتومی شده را بوسیله دستگاه ماز بعلاوه مرتفع مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که گنادکتومی باعث افزایش اضطراب در موش‌های نر بالغ می‌گردد. سپس تزریق زیر جلدی (sc) مقادیر مختلف تستوسترون (100,200,300,450µg/rat) موجب افزایش وابسته به دوز تعداد ورود به بازوی باز (OAE%)^۱ و مدت زمان ماندن در بازوی باز (OAT%)^۲ می‌گردد. بیشترین پاسخ را دوز 450µg/rat دارو ایجاد نمود و می‌توان نتیجه گرفت که تستوسترون موجب کاهش رفتار ترس می‌گردد [۸]. در ارتباط با مطالب گفته شده در مورد اثرات ضد اضطرابی تستوسترون، یافته‌های دیگر حاکی از این است که با افزایش سن به علت کاهش تستوسترون، اضطراب در افراد پیر افزایش می‌یابد [۳]. نتایج این پژوهش نشان داد که کلراید روی به میزان ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم، شاخص‌های اضطراب را در موش‌های گنادکتومی شده، به شدت افزایش می‌دهد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که اثرات روی در شرایط گنادکتومی عکس اثرات آن در موش‌های دست نخورده است. اثر ضد اضطرابی روی ممکن است به دلیل نقش یون روی در سیستم‌های نوروشیمیایی اضطراب باشد. در فضای پیش سیناپسی در مغز یون روی به همراه گلوتامات خارج می‌شود و بر علامت دهی گلوتامات اثر مهاری دارد [۲۱]. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که گلوتامات به عنوان یک نوروترانسمیتر مهم در رفتارهای اضطرابی محسوب می‌شود و افزایش آن سبب افزایش اضطراب می‌گردد. از سوی دیگر مهار گیرنده گلوتاماتی NMDA و یا مهار خروج گلوتامات می‌تواند سبب ایجاد اثرات ضد اضطرابی گردد [۱۵]. روی، فعالیت گیرنده NMDA را با دو مکانیسم انسداد کانال وابسته به ولتاژ و انسداد غیر وابسته به ولتاژ، مهار می‌کند [۱۲]. غلظت‌های کم روی، قسمت خارجی کانال گیرنده NMDA را بصورت مستقل از ولتاژ مهار می‌کند، در صورتیکه جایگاه وابسته به ولتاژ گیرنده NMDA با غلظت بالای روی مهار می‌گردد [۱۳]. می‌توان اثر اضطراب زایی یون روی در موش‌های گنادکتومی را به افزایش گلوتامات و تحریک گیرنده NMDA نسبت داد. نوایی

1. Open arm enter
2. Open arm time

سپاسگزاری

جهت حمایت مالی و مدیر عامل محترم شرکت داروپخش جناب آقای دکتر نقدی که در اجرای این تحقیق حمایت و همکاری فرمودند، کمال تشکر خود را اعلام می نمایم.

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز

References

- [1] Cooper GM, The Cell, a molecular approach. *RNA Synthesis and Processing*, Oxford University, ASM Press, 2nd ed. 1977, p. 248.
- [2] Frye CA, Lacey EH, Posttraining androgens enhancement of cognitive Performance is temporally distinct from androgen increases in affective behavior. *Cogn affect Behav Neurosci* 2 (2001) 172-182.
- [3] Giltay EJ, Enter D, Zitman FG, Penninx BWJH, Pelt JV, Spinhoven PH, Roelofs K, Salivary testosterone: Associations with depression, anxiety disorders, and antidepressant use in a large cohort study. *J Psychosom Res* 72 (2012) 205-213.
- [4] Guasti AF, Mota LM, Anxiolytic like actions of testosterone in the burying behavior test: role of androgen and GABA-benzodiazepine receptors. *Psychoneuroendocrinology* 30 (2005) 762-770.
- [5] Hidiroglou M, Knipfel JE, Zinc in Mammalian Sperm. *J Dairy Sci* 67 (1984) 1147-1156.
- [6] Hodosy J, Zelmanova D, Majzunova M, Filova B, Malinova M, Ostatnikova D, Celec P, The anxiolytic effect of testosterone in the rat is mediated via the androgen receptor. *J Pharmacol Biochem Behav* 102 (2012) 191-195.
- [7] Kessler RC, Brandenburg N, Lane M, Roy-Byrne P, Stang PD, Stein DJ, Wittchen HU, Rethinking the duration requirement for generalized anxiety disorder: evidence from the National Comorbidity Survey Replication. *Psychol Med* 35 (2005) 1073-1082.
- [8] Khakpay F, Rostami P, Peilevarian AA, The effect of gonadectomy and treatment with testosterone on fear behavior in gonadectomized rats. *Physiol Pharmacol* 10 (2006) 211-218.
- [9] Kim J, Gorman J, The Psychobiology of anxiety. *J Clin Neurosci Res* 4 (2005) 335-347.
- [10] Lund TD, Lephart ED, Dietary soy phytoestrogens produce anxiolytic effects in the elevated plus maze. *J Brain Res* 913 (2001) 180-184.
- [11] Mard-Soltani M, Kesmati M, Khajehpour L, Interaction between anxiolytic effect of testosterone and b-1 adrenoceptors of basolateral amygdala. *Int J Pharmacol* 8 (2012) 344-354.
- [12] Mocchegiani E, Bertoni F, Mrcellini F, Malavolta M, Brain, aging and neurodegeneration: Role of zinc ion availability. *Prog Neurobiol* 75 (2005) 367-390.
- [13] Nakashima AS, Dyck RH, Zinc and cortical plasticity. *Brain Res Rev* 59 (2009) 347-373.
- [14] Navabi P, *The effects of zinc administration and its interaction with dexamethasone on anxiety like and depressive behavior levels in adult male rats* [dissertation] Ahvaz (khuzestan). Shahid Chamran Univ 2011.
- [15] Palomares-Castilloa E, Hernandez-Pérez OR, Pérez-Carreraa D, Crespo-Ramreza M, Fuxeb K, Pérez dela Moraa M, The intercalated paracapsular islands as a module for integration of signals regulating anxiety in the amygdala. *Brain Res* 1476 (2012) 211-234.
- [16] Pekary AE, Lukaski HC, Mena I, Smith SM, Bhasin SH, Hershman JM, Testosterone increases TRH biosynthesis in epididymis but not heart of zinc-deficient rats. *Peptides* 14 (1993) 315-324.
- [17] Railey AM, Micheli TL, Wanschura PB, Flinn JM, Alterations in fear response and spatial memory in pre- and post-natal zinc supplemented rats remediation by copper. *J Physiol Behav* 100 (2010) 95-100.
- [18] Shafiei Neek L, Gaeini AA, Choobineh S, Effect of zinc and selenium supplementation on serum testosterone and plasma lactate in cyclist after an exhaustive exercise bout. *Biol Trace Elem Res* 144 (2011) 454-462.
- [19] Sinquin G, Morfin R, Charles JF, Floch h, Testosterone metabolism by homogenates of human prostates with benign hyperplasia: Effect of tissular concentrations of zinc, magnesium and copper. *J Steroid Biochem* 17 (1982) 395-400.
- [20] Takeda A, Zinc homeostasis and functions of zinc in the brain. *Biomaterials* 14 (2001) 343-351.

- [21] Takeda A, Tamano H, Kan F, Itoh H, Oku N, Anxiety-like behavior of young rats after 2-week zinc deprivation. *Behav Brain Res* 177 (2007) 1-6.
- [22] Walf AA, Frye CA, Antianxiety and Antidepressive Behavior Produced by Physiological Estradiol Regimen may be Modulated by Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Activity. *Neuropsychopharmacology* 30 (2005) 1288-1301.
- [23] Watanabe M, Tamano H, Kikuchi T, Takeda A, Susceptibility to stress in young rats after 2-week zinc deprivation. *Neurochem Int* 56 (2010) 410-416.
- [24] Weems CF, Stickle TR, Anxiety disorders in childhood: Casting a nomological net. *Clin Child Fam Psychol Rev* 8 (2005) 107-134.
- [25] Whittle N, Lubec G, Singewald N, Zinc deficiency induces enhanced depression-like behavior and altered limbic activation reversed by antidepressant treatment in mice. *Amino Acids* 36 (2009) 147-158.