

بهبود رفتارهای شبه اتیسم با تزریق اکسی توسین در مدل تجربی اتیسم القا شده با محرومیت مادری در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده

نویسندگان: منیره منصوری^۱، حمیدرضا پوراعتماد^{۱*}، مهرداد روغنی^۲، گرگز وگنر^۳، مریم اردلان^۴

۱. پژوهشکده علوم شناختی و مغز دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳. پژوهشکده عصب روانپزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آرهوس، آرهوس، دانمارک
۴. پژوهشکده نوروساینس و فیزیولوژی، دانشگاه گوتنبرگ، گوتنبرگ، سوئد

E-mail: pouretemad.h@gmail.com

*نویسنده مسئول: حمیدرضا پوراعتماد

چکیده

مقدمه و هدف: محرومیت از مادر به عنوان تجربه منفی در اوایل زندگی می‌تواند با تأثیر بر تکامل صحیح مغز منجر به اختلالات پایدار مانند رفتارهای شبه اتیسم شود. سیستم اکسی توسینرژیک در فرآیند محرومیت مادری دچار تغییر شده و از طرفی اثر مثبت هورمون اکسی توسین در بهبود رفتارهای اجتماعی و رفتار کلیشه‌ای در اختلال اتیسم نشان داده شده است. در این مطالعه اثر اکسی توسین در بهبود رفتارهای شبه اتیسم القا شده با محرومیت مادری در موش‌های ماده بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: بدین جهت ۳۲ بچه موش ماده در چهار گروه قرار گرفتند. دو گروه آن‌ها طی ۱۴ روز اول زندگی، روزانه ۳ ساعت از مادر جدا شدند. در حالی که دو گروه دیگر در شرایط طبیعی نگهداری شدند. پس از شیر گرفتنی از هر یک از دو گروه فوق یک گروه در پنج نوبت تحت درمان با اکسی توسین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم قرار گرفتند. در سن نوجوانی (PND=42-50) آزمون‌های رفتار اجتماعی، رفتارهای کلیشه‌ای و رفتار اضطرابی گرفته شد. همچنین سطح BDNF پلاسما سنجیده شد.

نتایج: مطالعه حاضر نشان داد محرومیت مادری منجر به بروز رفتارهای شبه اتیسم و رفتار اضطرابی در موش‌های ماده در سن نوجوانی شد ($p < 0/05$) که با تزریق اکسی توسین این رفتارها به طور چشمگیر کاهش پیدا کردند ($p < 0/05$). همچنین محرومیت مادری منجر به افزایش معنی‌دار سطح BDNF پلاسما شد ($p < 0/05$) که درمان با اکسی توسین اثر معنی‌دار در کاهش آن نداشت.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که درمان با اکسی توسین در تعدیل رفتارهای شبه اتیسم و رفتار اضطرابی القا شده با محرومیت مادری در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده نقش مؤثر داشت.

واژگان کلیدی: رفتارهای شبه اتیسم، محرومیت مادری، اکسی توسین، BDNF

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌وهفتم - شماره ۱۴۴
دی ۱۳۹۸

دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۰۱
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۸/۰۹/۱۶
پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۲۴

مقدمه

تماس مادری ضعیف، ایزولاسیون اجتماعی، مواجهه افراطی با لوازم دیجیتال (که به آن دایه گری دیجیتالی^۲ گفته شده است) و یا پدیده‌های استرس‌زای دیگر در ابتدای زندگی نقش عمده‌ای در تکامل مغز و ایجاد اختلالات روانشناختی در زندگی آینده فرد دارد (۱۴-۱۶). با توجه به محدودیت‌های مطالعات انسانی، انجام مطالعات پیش بالینی با مدل‌های حیوانی در کشف بیومارکرها، عوامل اتیولوژیک و درمان‌های دارویی و محیطی امری ضروری است.

محرومیت از مادر مدل حیوانی شناخته شده در اختلال اضطراب و افسردگی است که مطالعات مختلفی از آن در جوندگان گزارش شده است (۱۷). در سال‌های اخیر برخی محققان اثر این مدل را در ایجاد رفتارهای شبه اتیسم نیز در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نشان داده‌اند (۱۸-۲۰). این مدل با جداسازی بچه موش‌ها در دوره شیرخوارگی به عنوان یک تجربه منفی زود هنگام شکل می‌گیرد. و با ایجاد اختلال در روند تکامل مغز باعث بروز مشکلات شناختی و رفتارهای اجتماعی در بزرگسالی می‌شود (۱۹).

اکسی توسین یک هورمون نوروپپتیدی است که از هسته‌های سوپرااپتیک و پاراوتریکولار هیپوتالاموس ترشح شده و از طریق غده هیپوفیز به خون آزاد می‌شود. این هورمون علاوه بر نقش فیزیولوژیک در خروج شیر و انقباضات رحم در زایمان، دارای گیرنده‌های فراوانی در نواحی مختلف مغز مانند هیپوکمپ، آمیگدال، استریاتوم و ساقه مغز است (۲۱) و در عملکردهایی مانند حافظه و یادگیری (۲۲)، تماس چشمی (۲۳) و رفتارهای اجتماعی پیچیده مانند شناخت اجتماعی، دلبستگی (۲۴) و رفتار مادرانه (۲۵) نقش دارد. مطالعات زیادی پیشنهاد کرده‌اند که سیستم اکسی توسین مرکزی می‌تواند در ایجاد اختلال طیف اتیسم درگیر باشد. چرا که بررسی‌های بالینی نشان داده‌اند، سطح هورمون اکسی توسین در پلاسمای افراد مبتلا به اتیسم نسبت به افراد

اختلال طیف اتیسم (ASD)^۱ یکی از اختلالات عصب تحولی است که با نقص در تعاملات اجتماعی و رفتارهای کلیشه‌ای شناخته می‌شود. طی سال‌های اخیر شیوع این اختلال در جهان به شدت رو به افزایش بوده و میزان آن به ۱ درصد جمعیت‌ها رسیده است (۱). به نظر می‌رسد که اختلالات اتیسم، در کشورهای در حال توسعه نسبت به جوامع توسعه یافته شیوع گسترده‌تری داشته باشد، اما به سبب عدم بررسی آماری دقیق، گزارش قابل استنادی در دسترس نیست (۲). با وجود مطالعات گسترده هنوز علت اصلی ایجاد اتیسم نامشخص است. هرچند شواهد زیادی در حمایت از اثر ژنتیک و وراثت وجود دارد (۳، ۴) اما در سال‌های اخیر مطالعات بر روی دوقلوها (۵) و در برخی موارد مطالعات ژنتیکی که نتایج عکس نشان داده‌اند (۶، ۷) حاکی از نقش مؤثر محیط در ایجاد اتیسم بوده است در حال حاضر درمان دارویی مؤثری برای اتیسم وجود ندارد و درمان‌های رفتاری و آموزشی مبنای مدیریت آن هستند (۸). داروهای تجویزی نیز جهت رفع علائم جانبی مانند اضطراب و افسردگی بکار می‌رود (۹).

امروزه نقش محیط و اثرات اپی ژنتیکی در ایجاد اتیسم بیشتر از گذشته مطرح است. قرار گرفتن در معرض عوامل محیطی مضر می‌تواند بیان ژن‌های تکاملی در دوره‌های حساس زندگی را تحت تأثیر قرار داده و خطر ابتلا به اختلالات عصب تحولی مانند اتیسم را افزایش دهد (۱۰، ۱۱). از جمله عوامل محیطی شناخته شده در ایجاد اتیسم تراژن‌هایی مانند تالیدومید، عفونت‌های ویروسی خاص، ضد تشنج‌های مادری مثل اسید والپروئیک، وزن پایین هنگام تولد، طول کوتاه بارداری و تجارب منفی اوایل زندگی (۱۲، ۱۳) هستند. در این میان، تجارب منفی اوایل زندگی عاملی است که کم‌تر در اتیسم مورد بررسی دقیق قرار گرفته است. تجارب اولیه زندگی بر تکامل مغز، شناخت و رفتار تأثیر قابل توجهی دارند. بنظر می‌رسد عواملی مانند

². Digital Nanning

¹. Autism Spectrum Disorder

طی آزمایش موش‌ها در شرایط استاندارد حیوان خانه با ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی و با دمای کنترل شده ۲۱ درجه و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

محرومیت مادری و درمان

موش‌های ماده باردار یک هفته قبل از زایمان به صورت انفرادی در قفس‌ها نگهداری شدند. بچه موش‌های ماده پس از تولد به ۴ گروه ۸ تایی به صورت زیر تقسیم شدند: ۱. گروه کنترل دریافت‌کننده سالین، ۲. گروه کنترل دریافت‌کننده اکسی‌توسین، ۳. گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده سالین و ۴. گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده اکسی‌توسین. گروه‌های ۳ و ۴ در دو هفته اول (PND1-PND14) روزانه به مدت ۳ ساعت (۹-۱۲) از مادر جدا شده و در قفس‌های کوچک به صورت انفرادی نگهداری شده، سپس به قفس مادر بازگردانده می‌شدند. پس از ۱۴ روز بچه موش‌ها تا روز ۲۱م به صورت عادی در کنار مادر نگهداری شدند. گروه‌های کنترل به صورت عادی تا روز شیر گرفتگی (PND21) در کنار مادر پرورش داده شدند. در گروه‌های دریافت‌کننده اکسی‌توسین (گروه ۲ و ۴) یک روز پس از شیر گرفتگی یعنی از PND22 تا PND30 اکسی‌توسین (O3251 Sigma) با دوز ۱ mg/kg به صورت داخل صفاقی و با فاصله ۸ ساعت تزریق شد (به طور کلی در ۵ نوبت) و در گروه‌های دریافت‌کننده سالین دقیقاً با همان برنامه فوق سالین تزریق شد. برای تشخیص جنسیت بچه موش‌ها، فاصله آنوزنیتال بررسی می‌شد. این فاصله در ماده‌ها نسبت به نرها نزدیک‌تر است. سیکل استروس نیز در این موش‌ها معمولاً از ۶۰ روزگی آغاز می‌شود، با توجه به اینکه آزمون‌های رفتاری و خون‌گیری در روزهای ۵۰-۴۲ صورت گرفت، فرض بر این است که سیکل استروس بر نتایج حاصل تأثیر قابل توجه نداشته است.

آزمون‌های رفتاری

در سن نوجوانی (PND42-PND50) آزمون‌های رفتاری

طبیعی هم‌سنان کم‌تر است (۲۶). تحقیقات گسترده‌ای توانایی قدرتمند این نوروپپتید هیپوتالاموسی را در تنظیم رفتار اجتماعی در بین گونه‌ها از جمله انسان نشان داده‌اند (۲۷). نتایج قانع‌کننده از تحقیقات حیوانی منجر به بررسی اثرات تجویز اکسی‌توسین بر روی انسان و همچنین تحقیقات مختلف در مورد درگیری احتمالی سیستم اکسی‌توسین در اتیولوژی و درمان اختلالات روانشناختی به ویژه اختلال طیف اتیسم شد (۲۸). مطالعات متعددی اثر اکسی‌توسین در بهبود رفتار اجتماعی و حتی کاهش رفتارهای کلیشه‌ای در افراد مبتلا به اتیسم را نشان داده‌اند (۲۹، ۳۰). اما مطالعات متضادی نیز گزارش شده است (۳۱، ۳۲) که این نشان‌دهنده نیاز به بررسی‌های بیشتر درباره مکانیسم تأثیر احتمالی اکسی‌توسین بر علائم اتیسم است. در همین چارچوب، مطالعه جاری به بررسی اثر احتمالی محرومیت مادری بر القاء رفتارهای شبه اتیسم در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده و اثر اکسی‌توسین در تعدیل این رفتارها می‌پردازد. همچنین سطح پروتئین BDNF پلازما مورد بررسی قرار می‌گیرد. با توجه به این که در برخی مطالعات انسانی افزایش سطح BDNF پلازما در افراد مبتلا به اتیسم گزارش شده است (۳۳، ۳۴)، در این مطالعه سنجش فاکتور فوق با چند هدف انجام می‌شود: ۱. کمک به تأیید اعتبار مدل حیوانی اتیسم که با توجه به ناشناخته بودن این اختلال در حال حاضر اعتبارسنجی مدل‌های حیوانی آن عمدتاً بر اساس آزمون‌های رفتاری است. ۲. نقش مهم آن در پلاستیسیته مغز و در نهایت بررسی اثر اکسی‌توسین بر تغییرات آن.

مواد و روش‌ها

حیوانات

کلیه مراحل این آزمون با تأیید کمیته اخلاق دانشگاه شهید بهشتی (RL.SBU.ICBS.۹۷.۱۰۴۵) انجام شده است. در این مطالعه از ۸ جفت موش بزرگ آزمایشگاهی نر و ماده بزرگسال جهت جفت‌گیری و تولد بچه موش‌های مورد مطالعه استفاده شد. موش‌های مورد نظر از حیوان خانه دانشکده زیست دانشگاه شهید بهشتی تهیه شدند.

¹. Post Natal Day

بودند استفاده شد. بدین صورت که موش مورد آزمون به مدت ۳۰ دقیقه در جعبه مورد نظر قرار داده می شد و پس از اتمام ۳۰ دقیقه، تعداد تیل‌های اختفاء شده توسط موش، شمارش می شدند. معیار مورد نظر جهت شمارش، پوشش ۷۵ درصدی تیل‌ها با پوشال بود. در این آزمون نیز قبل از شروع برای هر موش تیل‌ها با پنبه الکل ۷۰ درصد پاک می شدند؛ و بین گروه‌ها نیز پوشال‌ها تعویض می شدند. تیل‌های اختفاء شده به عنوان رفتار کلیشه‌ای در موش ثبت شدند.

آزمون میدان باز^۳ جهت بررسی رفتار اضطرابی و رفتار کلیشه‌ای

در آزمون میدان باز از جعبه آزمون با ابعاد ۴۰×۴۰×۴۰ cm شده بود، استفاده شد. بدین صورت که موش به مدت ۱۰ دقیقه در جعبه قرار داده شد تا به صورت آزادانه در جعبه گردش کند. رفتار موش در این مدت توسط دوربین‌های قرار گرفته در بالای جعبه آزمون ضبط شد و سپس موارد زیر ثبت شدند:

۱. مدت زمان سپری شده در دایره مرکزی؛ که طبق مطالعات گذشته موش‌های با اضطراب بالاتر مدت زمان کم‌تری در این دایره سپری می کنند.
۲. زمان صرف شده برای تمیز کردن خود؛ توسط موش که به عنوان معیار دیگری از رفتار تکراری ثبت شد.

جعبه آزمون قبل از اجرای آزمون برای هر موش با پنبه و الکل ۷۰ درصد پاک می شد.

بررسی میزان BDNF پلاسما

پس از اتمام آزمون‌های رفتاری در هر روز جهت بررسی میزان پروتئین BDNF در پلاسما، پس از بیهوشی عمیق با کتامین (Ratiopharm, Germany; 150mg/kg, i.p) خون‌گیری به صورت مستقیم از قلب با لوله‌های ادتا صورت گرفت. نمونه‌های خون پس از سانتریفیوژ با دور ۶۰۰۰rpm به مدت ۲۰ دقیقه و تهیه سوپرناتانت تا روز سنجش BDNF در فریزر با دمای ۸۰- درجه قرار داده

مرتبط با اتیسم به صورت زیر از تمامی گروه‌ها گرفته شد. ضمن اینکه جهت انجام آزمون‌های رفتاری، موش‌ها یک ساعت قبل از شروع آزمون به اتاق آزمون‌های رفتاری منتقل می شدند. تمامی آزمون‌ها برای هر موش در یک روز گرفته شده و بین آزمون‌ها یک ساعت استراحت داده می شد.

بررسی رفتار اجتماعی با آزمون تریچمب^۱

در این آزمون از یک جعبه ۳ اتاقکی با ابعاد ۴۰×۳۵×۲۰ cm استفاده شد که اتاقک وسط به دو اتاقک دیگر با درهای قابل باز و بسته شدن مرتبط بود. بدین صورت که ابتدا موش مورد آزمون به مدت ۵ دقیقه در اتاقک وسط قرار داده شده و سپس درها باز شده و ۱۰ دقیقه به موش فرصت داده می شد تا در کل فضای جعبه آزمون به صورت آزادانه گردش کرده و با محیط آشنا شود. سپس موش در اتاقک وسط قرار داده شده و درها بسته می شدند؛ و در یکی از اتاقک‌ها یک موش غریبه هم سن و هم جنس با موش مورد آزمون که قبلاً با آن هیچ نوع تماسی نداشته است قرار داده می شد و در اتاقک دیگر یک قفس خالی به عنوان شیء جدید قرار داده شده و درها به صورت همزمان باز می شدند. سپس به موش ۱۰ دقیقه زمان داده می شد تا به صورت آزادانه در کل فضای جعبه گردش کند. پس از اتمام آزمون موش به قفس استراحت منتقل می شد. آزمون با دوربین‌های موجود در بالای جعبه ضبط شده و موارد زیر جهت بررسی رفتار اجتماعی موش‌ها ثبت شد:

۱. مدت زمان سپری شده در اتاقک موش غریبه
 ۲. مدت زمان سپری شده در اتاقک با شیء جدید
 ۳. مدت زمان سپری شده برای بو کردن موش غریبه
 ۴. مدت زمان سپری شده برای بو کردن شیء جدید
- قبل از شروع آزمون برای هر موش جعبه‌ها با پنبه و الکل ۷۰ درصد تمیز می شدند.

بررسی رفتار کلیشه‌ای با آزمون اختفاء تیل‌ها^۲

در این آزمون به طور خلاصه از ۲۰ عدد تیله کرومی که بر سطح پوشال در ردیف‌های ۵ تایی چیده شده

³. Open field test

⁴. Self-grooming

¹. Three-chamber test

². Marble burying test

نتایج

آزمون تریچمبر

۱. رفتار اجتماعی

طبق شکل ۲. الف مقایسه درون‌گروهی با روش آنوای با اندازه‌گیری‌های مکرر در این آزمون نشان داد که در گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده سالیان مدت زمان سپری شده در اتاقک موش غریبه نسبت به زمان سپری شده در اتاقک شیء جدید به طور معنی‌دار کمتر است ($p < 0/001$) در حالی که در سه گروه دیگر یعنی گروه‌های کنترل و گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده اکسی‌توسین، مدت زمان سپری شده در اتاقک موش غریبه نسبت به اتاقک شیء جدید به طور معنی‌دار بیشتر است ($p = 0/003, p = 0/001$). این نشان می‌دهد که گروه تحت محرومیت مادری تمایل دارد بیشتر در کنار شیء جدید باشد و نه موش غریبه که این معادل نقص رفتار اجتماعی و تمایل کم‌تر به افراد غریبه در انسان‌های مبتلا به اتیسم است. در صورتی که موش‌های کنترل حضور بیشتر در کنار موش غریبه را ترجیح داده‌اند. همچنین در گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده اکسی‌توسین این رفتار تصحیح شده و همان‌طور که در نمودار شکل ۲. الف نشان داده شده است تمایل به حضور در اتاقک موش غریبه افزایش یافته است.

۲. تعامل اجتماعی مستقیم

در آزمون تریچمبر، مدت زمانی که موش مورد آزمون به طور مستقیم صرف بو کردن موش غریبه و یا شیء جدید می‌کند به عنوان معیار تعامل اجتماعی مستقیم در نظر گرفته می‌شود. با مقایسه درون‌گروهی به روش آنوای با اندازه‌گیری‌های مکرر مشاهده شد که در گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده سالیان مدت زمان تعامل اجتماعی مستقیم با موش غریبه نسبت به شیء جدید به طور معنی‌دار کم‌تر است ($p < 0/001$) در حالی که در گروه کنترل دریافت‌کننده سالیان و گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده اکسی‌توسین تفاوت معنی‌دار بین دو شیء جدید و موش غریبه وجود ندارد ($p = 0/309, p = 0/201$)؛ و در گروه کنترل دریافت‌کننده

شدند. سطح BDNF پلاسما با استفاده از کیت الیزا (RAB 1138, Sigma) و طبق پروتکل کارخانه اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها به صورت ۱:۳۰۰ رقیق شده و محدوده منحنی استاندارد ۱۲-۳۰۰۰ pg/ml بود. واکنش با دستگاه میکروپلیت ریدر (BioTek, USA) و در طول موج ۴۵۰ نانومتر سنجیده شد.

تحلیل‌های آماری

تمامی تحلیل‌های آماری با استفاده از نسخه ۲۲ نرم‌افزار SPSS انجام شد. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از پلات Q-Q استفاده شد. آزمون لون^۱ برای بررسی برابری واریانس‌ها اجرا شد. برای مقایسه درون‌گروهی در آزمون تریچمبر از روش آنوای با اندازه‌گیری‌های مکرر^۲ استفاده شد؛ و برای تمامی آزمون‌های رفتاری دیگر روش آنوای دوطرفه^۳ و پست تست توکی^۴ اجرا شد. در مورد داده‌های آزمون رفتاری تمیز کردن خود به دلیل نابرابری سطح واریانس‌ها طبق نتیجه آزمون لون، تبدیل لوگاریتمی بر روی داده‌های اولیه انجام شد. همچنین جهت تحلیل داده‌های سطح BDNF پلاسما به دلیل توزیع غیر نرمال داده‌ها از روش ناپارامتری کروسکال والیس استفاده شد. داده‌ها به صورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده‌اند. فرض صفر با سطح معنی‌داری $p < 0/05$ رد شد.



شکل ۱. فرآیند محرومیت مادری.

در ۱۴ روز اول زندگی بچه موش‌ها روزانه به مدت ۳ ساعت از مادر جدا می‌شدند و در قفس‌های کوچک بدون پوشال و به تنهایی نگهداری می‌شدند. پس از اتمام ۳ ساعت به قفس مادر بازگردانده می‌شدند.

1. Leven's test

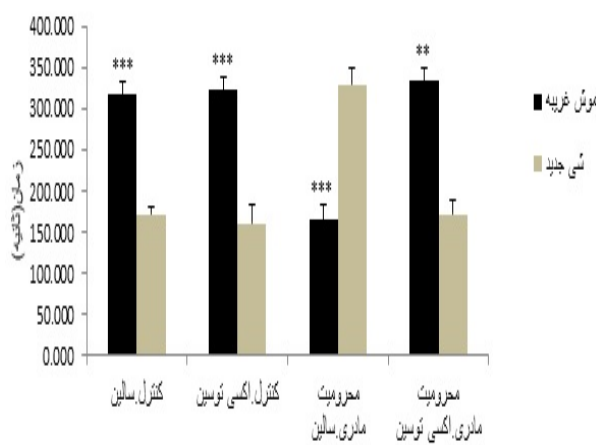
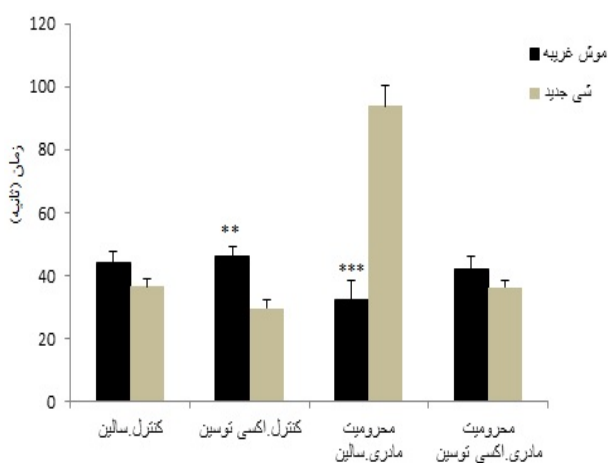
2. Repeated Measure ANOVA

3. Two way ANOVA

4. Tukey

که موش‌های تحت محرومیت مادری دچار کاهش تمایل به تعامل اجتماعی مستقیم با موش غریبه شده‌اند؛ اما در گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده اکسی توسین این رفتار تصحیح شده و مدت زمان بو کردن مستقیم موش غریبه نسبت به شیء جدید افزایش یافته است.

اکسی توسین زمان سپری شده برای تعامل اجتماعی مستقیم با موش غریبه نسبت به شیء جدید به طور معنی‌دار بیشتر است ($p=0/001$) (شکل ۲. ب)؛ بنابراین در گروه کنترل تفاوت معنی‌دار بین مدت زمان بو کردن موش غریبه نسبت به بو کردن شیء جدید وجود نداشته است و در واقع تمایل به برقراری ارتباط مستقیم با موش غریبه کم‌تر از شیء جدید نبوده است. در حالی



ب

الف

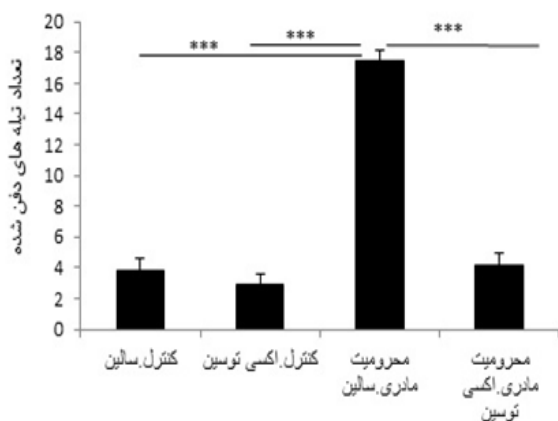
شکل ۲. اثر جداسازی از مادر و درمان با اکسی توسین (۱ میلی گرم بر کیلوگرم) بر روی رفتار اجتماعی (الف) و تعامل اجتماعی مستقیم (ب) در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده.

با توجه به اینکه مقایسه درون گروهی در این آزمون صورت گرفته است، ستاره‌ها نشان‌گر تفاوت معنی‌دار بین موش غریبه و شیء جدید در هر گروه است. $P < 0/001$ *** $P < 0/01$ **

اکسی توسین است.

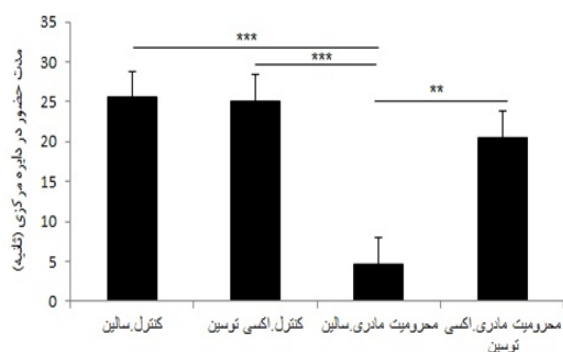
آزمون اختفاء تپله‌ها

در آزمون اختفاء تپله‌ها، تعداد تپله‌های پنهان شده با پوشال به عنوان معیاری برای رفتار کلیشه‌ای در موش‌ها ثبت می‌شود. برای مقایسه گروه‌ها از آزمون آنوای دوطرفه و پست تست توکی استفاده شد و دیده شد که گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده سالین نسبت به گروه‌های کنترل به طور معنی‌دار تعداد تپله‌های بیشتری اختفاء کرده است ($p < 0/001$). از طرفی گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده اکسی توسین نیز نسبت به گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده سالین با تفاوت معنی‌دار تعداد تپله‌های کم‌تری اختفاء کرده‌اند ($p < 0/001$) (شکل ۳). این نتایج بیانگر افزایش رفتار کلیشه‌ای در موش‌های تحت محرومیت مادری و تصحیح این رفتار با دریافت



شکل ۳. اثر جداسازی از مادر و درمان با اکسی توسین (۱ میلی گرم بر کیلوگرم) بر روی رفتار اختفاء تپله‌ها در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده. $P < 0/001$ ***

(شکل ۵)؛ بنابراین در موش‌های تحت محرومیت مادری میزان اضطراب نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار داشته است و این گروه تمایل کم‌تری به جستجو در قسمت مرکزی جعبه آزمون را داشته‌اند و حضور در قسمت‌های کناری را که مکان‌های امن‌تری به نظر می‌رسد ترجیح داده‌اند؛ اما در گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده اکسی توسین کاهش رفتار اضطرابی با حضور بیشتر موش‌ها در دایره مرکزی مشاهده شد.



شکل ۵. اثر جداسازی از مادر و درمان با اکسی توسین (۱) میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر روی رفتار اضطرابی، در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده
*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$

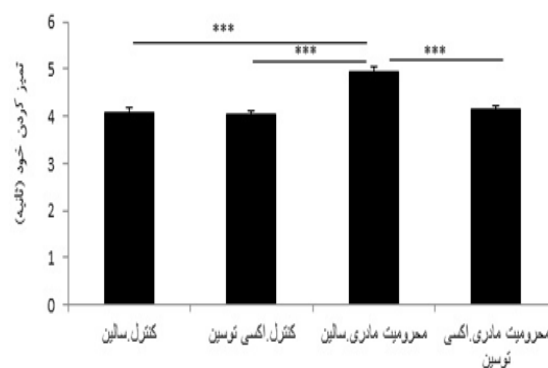
سطح BDNF پلاسما

داده‌های حاصل از سنجش سطح BDNF پلاسما دارای توزیع غیر نرمال بودند بنابراین جهت تحلیل آماری آن از آزمون ناپارامتری کروسکال والیس استفاده شد و همان‌طور که در شکل ۶ نشان داده شده است، سطح BDNF پلاسما در گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده سالین به طور معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل بیشتر بود ($p=0.005$, $p=0.022$)، ولی تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده اکسی توسین تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ($p=0.061$). همچنین گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده اکسی توسین با گروه‌های کنترل نیز تفاوت معنی‌دار نداشتند ($p=0.0438$, $p=0.0738$)؛ بنابراین محرومیت مادری منجر به افزایش سطح BDNF پلاسما شده و درمان با اکسی توسین توانسته بر کاهش معنی‌دار آن مؤثر باشد.

آزمون میدان باز

۱. رفتار تکراری

در آزمون میدان باز مدت زمان سپری شده برای تمیز کردن خود توسط موش به عنوان رفتار تکراری ثبت شد؛ و تحلیل آماری آن با روش آنوای دوطرفه و پست تست توکی نشان داد که گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده سالین به طور معنی‌دار مدت زمان بیشتری را نسبت به سه گروه دیگر برای تمیز کردن خود صرف کرده‌اند ($p < 0.001$). به علت نابرابری واریانس داده‌های این آزمون تبدیل لوگاریتمی بر روی داده‌های اولیه انجام شد (شکل ۴). این نتایج نیز افزایش رفتار تکراری در موش‌های تحت محرومیت مادری را تأیید کردند و در این جا نیز درمان با اکسی توسین منجر به بهبود این رفتار شد.



شکل ۴. اثر جداسازی از مادر و درمان با اکسی توسین (۱) میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر روی رفتار تمیز کردن خود، در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده

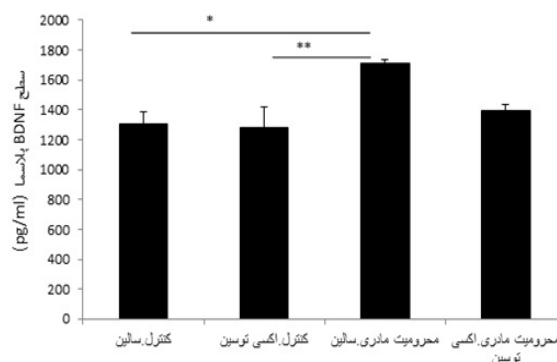
*** $P < 0.001$. به دلیل نابرابری واریانس‌ها، تبدیل لوگاریتمی بر روی داده‌های اولیه انجام شد.

۲. رفتار اضطرابی

مدت زمان حضور موش در دایره مرکزی جعبه میدان باز جهت بررسی رفتار اضطراب در موش‌ها ثبت می‌شود. بدین صورت که زمان کم‌تر صرف شده در این دایره نشان دهنده اضطراب بیشتر موش است. در این آزمون نتایج تحلیل آنوای دوطرفه و پست تست توکی نشان داد که گروه محرومیت مادری دریافت‌کننده سالین نسبت به سه گروه دیگر به طور معنی‌دار زمان کم‌تری در دایره مرکزی گذرانده‌اند ($p=0.001$, $p=0.011$)

تجارب بد اوایل زندگی را در افراد مبتلا به اتیسم انجام دادند و بیان کردند که بین تشخیص ASD و احتمال گزارش تجارب بد اوایل زندگی ارتباطی قوی وجود دارد. علاوه بر آن تعداد کودکان اتیسمی که در معرض بیش از چهار تجربه بد اوایل زندگی قرار گرفته بودند دو برابر همسالان طبیعی بود (۳۶). محرومیت از مادر و به هم خوردن تعامل کودک- والد یکی از عوامل استرس‌زای دوران کودکی محسوب می‌شود که می‌تواند در تکامل صحیح مغز تداخل ایجاد کرده و منجر به بروز اختلالات رفتاری در آینده فرد شود. داوسون می‌گوید الگوی تغییر یافته تعامل کودک-مادر، کودک را از تجارب ارتقا دهنده رشد محروم کرده و مسیری برای آسیب‌پذیری در برابر ASD فراهم می‌کند. از نظر داوسون تمام علائم اتیسم با تمرکز بر تعامل مادر- کودک قابل درمان و حتی پیشگیری است (۳۷). از طرفی مطالعات نشان داده‌اند که سیستم اکسی توسین‌ژیک تحت تأثیر تعامل مادر-فرزند است. برای مثال مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴ نشان داد که جداسازی از مادر در ۱۴ روز اول زندگی منجر به تغییر اتصال اکسی توسین به گیرنده‌اش در نواحی مختلف مغز موش‌ها می‌شود (۳۸). همچنین مطالعه دیگری نشان داد که تماس پوست به پوست با مادر اکسی توسین مرکزی را در فرزند تحریک کرده و شرایطی برای القای گرایش فرزند به بوی مادری و تثبیت تمایل اجتماعی در بچه موش‌ها ایجاد می‌کند (۳۹).

پاتوژنز اتیسم در حال حاضر مشخص نیست. درمان‌های دارویی مختلف بر پایه مکانیسم‌های فرضی مرتبط با علائم متمرکز است که تنها داروی مورد تأیید FDA ریسپریدون و آریپرازول هستند اما این داروها فقط برای درمان تحریک‌پذیری در این اختلال است و داروی تأیید شده‌ای برای بهبود علائم اصلی اتیسم وجود ندارد (۴۰). بنابراین درمان‌ها بر پایه هیچ پاتوژنز دقیقی نیستند و از طریق آزمون و خطا توسعه پیدا می‌کنند. با این وجود برخی از والدین کودکان اتیسمی حتی با مواد و داروهای فاقد شواهد علمی سعی دارند



شکل ۶. اثر جداسازی از مادر و درمان با اکسی توسین ۱) میلی‌گرم بر کیلوگرم) ر روی سطح پروتئین BDNF پلاسما، در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تجربه محرومیت از مادر (۳ ساعت در روز) در ۱۴ روز اول زندگی در موش‌های ماده باعث بروز رفتارهای شبه اتیسمی و رفتار اضطرابی در نوجوانی می‌شود. تزریق اکسی توسین با دوز ۱mg/kg در ۵ نوبت باعث کاهش چشم‌گیر این رفتارها شد. همچنین نتیجه مطالعه مولکولی نشان داد که سطح پروتئین BDNF در پلاسما گروه‌های محرومیت مادری به طور قابل توجه افزایش پیدا کرد که تزریق اکسی توسین نتوانست در کاهش معنی‌دار آن مؤثر باشد. در سال‌های اخیر اثر جداسازی از مادر در ایجاد رفتارهای شبه اتیسم بر روی موش‌های نر در چند مطالعه نشان داده شده است (۱۸، ۱۹). ما در این جا اثر این تجربه نامطلوب زودهنگام را در بروز نقص رفتار اجتماعی و رفتارهای تکراری که علائم اصلی اتیسم هستند و همچنین در افزایش رفتار اضطرابی در موش‌های ماده نشان دادیم. مطالعات بر روی تجارب بد دوران کودکی در جمعیت‌های عمومی، تأثیر مهمی در درک اثر استرس و تروما بر روی سلامت ذهن داشته است. چرا که این مطالعات ارتباط قوی بین اتفاق‌های استرس‌زا و تروماتیک در کودکی (سن ۱۸-۰ سالگی) و آسیب‌شناسی روانی را نشان داده‌اند (۳۵). برگ و همکارانش در سال ۲۰۱۶ اولین مطالعه بررسی میزان

داشته است (۲۶، ۲۹) اما با توجه به گزارش‌های متضاد با نتایج منفی (۳۰، ۳۱) مسیر زیادی برای رسیدن به قطعیت در پیش است. نحوه تجویز، دوز و طول مدت درمان عواملی هستند که نیاز به مطالعات طولانی مدت با نمونه‌های بزرگ‌تر دارند. همچنین یافتن عوامل دارویی دیگر که بتواند بر مسیر اکسی توسین اثر بگذارد می‌تواند گزینه‌های درمانی دیگری باشد.

نوروتروفین‌هایی مانند BDNF نقش مهمی در رشد و پلاستیسیته مغز دارند و تحقیقات نشان داده‌اند میانجی برخی از اثرات تجربیات زود هنگام بر عملکرد مغز هستند (۵۲). آشکار است که یافتن بیومارکرهای شیمیایی قابل سنجش می‌تواند در تشخیص زود هنگام تر اختلال اتیسم بسیار کمک کننده باشد. محققان تاکنون در این زمینه به قطعیت در مورد ماده خاصی نرسیده‌اند. اما برخی مطالعات سطوح افزایش یافته BDNF در پلاسما کودکان و بزرگسالان جوان مبتلا به اتیسم را نشان داده‌اند (۳۳، ۳۴). در مدل حیوانی مطالعه حاضر نیز افزایش سطح BDNF پلاسما در موش‌های تحت محرومیت مادری مشاهده شد که تزریق اکسی توسین اثر معنی‌دار در کاهش آن نداشت. البته یافته‌های دیگر نشان می‌دهد که این تأثیر احتمالاً وابسته به جنس است، زیرا در موش‌های نر تحت محرومیت مادری، اثر اکسی توسین در کاهش سطح BDNF پلاسما دیده شده است (۵۳). این تبیین شاید بتواند افزایش نرخ اتیسم در پسران را توجیه کند. از سوی دیگر، افزایش سطح BDNF می‌تواند در پاسخ به بهم ریختگی پلاستیسیته سیناپسی باشد و یا خود عاملی برای این بهم ریختگی باشد. به نظر می‌رسد با مطالعات بیشتر می‌توان این بیومارکر را به عنوان معیاری برای تأیید اعتبار مدل حیوانی اتیسم در کنار آزمون‌های رفتاری قرار داد. همچنین شاید بتوان به عنوان هدف درمانی نیز به آن نگاه کرد.

مهم‌ترین محدودیت پژوهش حاضر این است که به دلیل ناشناخته بودن اختلال اتیسم، مدل‌های حیوانی آن عمدتاً بر اساس آزمون‌های رفتاری اعتباردهی می‌شوند

به کودکان خود کمک کنند (۴۱). برخی تصحیحات فنوتایپی نیز به دنبال درمان‌های دارویی مانند بنزودیازپین‌ها، بولتایانید و اکسی توسین دیده شده است (۴۲-۴۴). با این حال، در بسیاری از موارد اصلاحات تنها جزئی هستند و برخی از نقایص و تغییرات فنوتایپی در مدل‌های موش آزمایشگاهی دست نخورده می‌مانند. نتایج کار ما نشان داد که تزریق اکسی توسین بلافاصله بعد از شیر گرفتگی، منجر به برگشت پذیری علائم شبه اتیسم و رفتار اضطرابی در موش‌های ماده شد. مطالعات حیوانی دیگری نیز بر روی مدل‌های ژنتیکی اتیسم اثر بهبودی تزریق اکسی توسین در رفتارهای شبه اتیسمی را نشان داده‌اند (۴۵). سیگنالینگ اکسی توسین‌ریژیک توزیع شده در مغز در اختلالات روانشناختی متعددی با علامت اصلی اختلال رفتار اجتماعی (مانند اتیسم، اضطراب اجتماعی، شخصیت مرزی و اسکیزوفرنیا) دخیل است (۴۶). اکسی توسین سیستم مرکزی، در پستانداران با رفتارهای اجتماعی مختلفی از قبیل دلبستگی اجتماعی و خشونت ارتباط دارد (۴۷). امروزه مقالات زیادی در مورد نقش اکسی توسین در رفتار اجتماعی وجود دارد اما درک مکانیسم دقیق عملکرد اکسی توسین هنوز مورد بحث است (۴۸). قابل توجه است که اکسی توسین و پاتوژنز ASD با جنسیت، رفتار و شناخت اجتماعی و ژن‌های گیرنده اکسی توسین ارتباط دارند (۴۹). کودکان مبتلا به اتیسم سطح اکسی توسین پایین‌تر و پیش‌سازهای اکسی توسین بیشتری در خونشان دارند (۵۰). با وجود این اطلاعات هنوز همبستگی دقیق اکسی توسین و سایکوپاتولوژی اتیسم مشخص نیست. یکی از مکانیسم‌های اثر اکسی توسین می‌تواند از طریق نوروترانسمیترهای دیگر مانند سروتونین و گلوتامات که خود در اتیسم دچار تغییر می‌شوند باشد. چراکه اکسی توسین بر هر دو این سیستم‌ها اثر می‌گذارد (۵۱) بررسی‌های انسانی گسترده‌ای نیز در زمینه درمان اتیسم با اکسی توسین انجام شده است که نتایج امیدوارکننده‌ای در کاهش رفتارهای تکراری و بهبود رفتار اجتماعی

و اعتباربخشی ساختاری و پیش‌بینی کننده برای مدل‌های حیوانی اتیسم دشوار است. به طور کلی ما در این مطالعه اثر اکسی توسین در بهبود رفتارهای شبه اتیسم القا شده با محرومیت مادری را در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده نشان دادیم.

تشکر و قدردانی

لازم می‌دانیم از خانواده محترم سلطانی که در حمایت مالی این پروژه ما را یاری کردند، نهایت تشکر و قدردانی را داشته باشیم.

منابع

1. Association AP. Association, A.P., Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5th ed. Washington, DC2013.
2. WHO. Autism spectrum disorders and other developmental disorders 2013. DF-1.5
3. Folstein SE, Rosen-Sheidley B. Genetics of autism: complex aetiology for a heterogeneous disorder. *Nature Reviews Genetics* 2001;2(12):943-55.
4. Weiss LA, Arking DE, Daly MJ, Chakravarti A. A genome-wide linkage and association scan reveals novel loci for autism. *Nature* 2009;461(7265):802-8.
5. Hallmayer J, Cleveland S, Torres A, Phillips J, Cohen B, Torigoe T, et al. Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Archives of General Psychiatry* 2011;68(11):1095-102.
6. Salehi M, Kamali E, Karahmadi M, Mousavi SM. RORA and Autism in The Isfahan Population: Is There An Epigenetic Relationship. *Cell Journal* 2017;18(4):540-6.
7. Nguyen A, Rauch TA, Pfeifer GP, Hu VW. Global methylation profiling of lymphoblastoid cell lines reveals epigenetic contributions to autism spectrum disorders and a novel autism candidate gene, RORA, whose protein product is reduced in autistic brain. *FASEB Journal* 2010;24(8):3036-51.
8. Posey DJ MC. Pharmacotherapeutic management of autism. *Expert Opin Pharmacother* 2001;2:587-600.
9. Adler BA WL, Early M, Shaffer R, Minshawi N, McDougle CJ, Erickson CA. Drug-refractory aggression, self-injurious behavior, and severe tantrums in autism spectrum disorders. *Autism* 2015;19:102-6.
10. Foley DL, Craig JM, Morley R, Olsson CA, Dwyer T, Smith K, et al. Prospects for epigenetic epidemiology. *American Journal of Epidemiology* 2009;169(4):389-400.
11. Wang SC, Oelze B, Schumacher A. Age-specific epigenetic drift in late-onset Alzheimer's disease. *PLoS One* 2008;3(7):e2698.
12. Kern JK, Jones AM. Evidence of toxicity, oxidative stress, and neuronal insult in autism. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 2006;9(6):485-99.
13. Kolevzon A, Gross R, Reichenberg A. Prenatal and perinatal risk factors for autism: a review and integration of findings. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine* 2007 Apr;161(4):326-33.
14. Agid O, Shapira B, Zislin J, Ritsner M, Hanin B, Murad H, et al. Environment and vulnerability to major psychiatric illness: a case control study of early parental loss in major depression, bipolar disorder and schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 1999;4(2):163-72.
15. Mazurek MO, Shattuck PT, Wagner M, Cooper BP. Prevalence and correlates of screen-based media use among youths with autism spectrum disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 2012;42(8):1757-67.
16. Pouretmad HR, S.S. Rahmati Digital nanning and autism spectrum disorder. *Journal of Education and Community Health* 2017; 17(3): 39-44.
17. Miragaia AS, de Oliveira Wertheimer GS, Consoli AC, Cabbia R, Longo BM, Girardi CEN, et al. Maternal Deprivation Increases Anxiety- and Depressive-Like Behaviors in an Age-Dependent Fashion and Reduces Neuropeptide Y Expression in the Amygdala and Hippocampus of Male and Female Young Adult Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 2018;12:159.
18. Tan T, Wang W, Xu H, Huang Z, Wang YT, Dong Z. Low-Frequency rTMS Ameliorates Autistic-Like Behaviors in Rats Induced by Neonatal Isolation Through Regulating the Synaptic GABA Transmission. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 2018;12:46.
19. Wu X, Bai Y, Tan T, Li H, Xia S, Chang X, et al. Lithium ameliorates autistic-like behaviors induced by neonatal isolation in rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 2014;8:234.

20. Sayed Javad Javaheri ES, Bigdeli MR, Zibai MI, Dargahi L, Pouretmad HR. Optogenetic Stimulation of the Anterior Cingulate Cortex Ameliorates Autistic-Like Behaviors in Rats Induced by Neonatal Isolation, Caudate Putamen as a Site for Alteration. *Neuro Molecular Medicine* 2019.
21. Thibonnier M CP, Thibonnier A et al. Molecular pharmacology and modeling of vasopressin receptors. *Progress in Brain Research* 2002;139:179-96.
22. Chini B LM, Braida D. Learning about oxytocin: pharmacologic and behavioral issues. *Biological Psychiatry* 2014;76(5):360-6.
23. Auyeung B, Lombardo, M. V. Heinrichs, M. Chakrabarti, B. Sule, A. Deakin, et al. Oxytocin increases eye contact during a real-time, naturalistic social interaction in males with and without autism. *Translational Psychiatry* 2015;5:507.
24. Insel TR YL. The neurobiology of attachment. *Nature Reviews Neuroscience* 2001;2(2):129-36.
25. Rich ME dE, Lee HJ et al. Impairments in the initiation of maternal behavior in oxytocin receptor knockout mice. *PLoS One* 2014;9(6):e98839.
26. Jacobson JD EK, Kelly KA et al. Evidence for alterations in stimulatory G proteins and oxytocin levels in children with autism. *Psychoneuroendocrinology* 2014;40:159-69.
27. Johnson ZV, Young LJ. Oxytocin and vasopressin neural networks: Implications for social behavioral diversity and translational neuroscience. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 2017;76(Pt A):87-98.
28. Modi ME, Young LJ. The oxytocin system in drug discovery for autism: animal models and novel therapeutic strategies. *Hormones and Behavior* 2012;61(3):340-50.
29. Andari E, Duhamel JR, Zalla T, Herbert E, Leboyer M, Sirigu A. Promoting social behavior with oxytocin in high-functioning autism spectrum disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2010;107(9):4389-94.
30. Guastella AJ, Einfeld SL, Gray KM, Rinehart NJ, Tonge BJ, Lambert TJ, et al. Intranasal oxytocin improves emotion recognition for youth with autism spectrum disorders. *Biological Psychiatry* 2010 ;67(7):692-4.
31. Anagnostou E SL, Chaplin W, Bartz J, Halpern D, Wasserman S, Wang AT, Pepa L, Tanel N, Kushki A. Intranasal oxytocin versus placebo in the treatment of adults with autism spectrum disorders: a randomized controlled trial. *Molecular Autism* 2012;3(16).
32. Cacciotti-Saija C, Langdon R, Ward PB, Hickie IB, Scott EM, Naismith SL, et al. A double-blind randomized controlled trial of oxytocin nasal spray and social cognition training for young people with early psychosis. *Schizophrenia Bulletin* 2015;41(2):483-93.
33. Armeanu R, Mokkonen, M., & Crespi, B., 2017. Meta-Analysis of BDNF Levels in Autism. *Cellular and Molecular Neurobiology* 2017;37(5):949-54.
34. Brondino N, Fusar-Poli L, Rocchetti M, Bertoglio F, Bloise N, Visai L, et al. BDNF levels are associated with autistic traits in the general population. *Psychoneuro endocrinology* 2018;89:131-3.
35. Fuld S. Autism Spectrum Disorder: The Impact of Stressful and Traumatic Life Events and Implications for Clinical Practice. *Clinical Social Work Journal* 2018;46:210-9.
36. Berg KL, Shiu C-S, Acharya K, Stolbach BC, Msall ME. Disparities in adversity among children with autism spectrum disorder: a population-based study. *Developmental Medicine & Child Neurology* 2016;58(11):1124-31.
37. Dawson G.. Early behavioral intervention, brain plasticity, and the prevention of Autism Spectrum Disorder. *Development and Psychopathology* 2008;20(30):775-803.
38. M. Lukas RB, I.D. Neumann, A.H. Veenema. Maternal separation interferes with developmental changes in brain vasopressin and oxytocin receptor binding in male rats. *Neuropharmacology* 2014;58(2010):78-87.
39. S. Kojima RAS, G. E. Demas, and J. R. Alberts. Maternal Contact Differentially Modulates Central and Peripheral Oxytocin in Rat Pups During a Brief Regime of Mother-Pup Interaction that Induces a Filial Huddling Preference. *Neuroendocrinology* 2012;24(5):831-40.
40. Lee SY, Lee AR, Hwangbo R, Han J, Hong M, Bahn GH. Is Oxytocin Application for Autism Spectrum Disorder Evidence-Based? *Experimental Neurobiology* 2015;24(4):312-24.
41. Giovagnoli G, Postorino V, Fatta LM, Sanges V, De Peppo L, Vassena L, et al. Behavioral and emotional profile and parental stress in preschool children with autism spectrum disorder. *Research in Developmental Disabilities* 2015;45-46:411-21.
42. Gogolla N, Takesian AE, Feng G, Fagiolini M, Hensch TK. Sensory integration in mouse insular cortex reflects GABA circuit maturation. *Neuron* 2014;83(4):894-905.
43. Penagarikano O LM, Lu XH, Gordon A,

- Dong H, Lam HA, et al. Exogenous and evoked oxytocin restores social behavior in the *Cntnap2* mouse model of autism. *Science Translational Medicine* 2015;7:271ra8.
44. Tyzio R NR, Ferrari DC, Tsintsadze T, et al. Oxytocin-mediated GABA inhibition during delivery attenuates autism pathogenesis in rodent offspring. *Science* 2014;343:675.
45. Teng BL, Nikolova VD, Riddick NV, Agster KL, Crowley JJ, Baker LK, et al. Reversal of social deficits by subchronic oxytocin in two autism mouse models. *Neuropharmacology* 2016;105:61-71.
46. Ross HE YL. Oxytocin and the neural mechanisms regulating social cognition and affiliative behavior *Frontiers in Neuroendocrinology* 2009;30:534-47.
47. Donaldson ZR, Young LJ. Oxytocin, vasopressin, and the neurogenetics of sociality. *Science* 2008 ;322(5903):900-4.
48. Young LJ, Flanagan-Cato LM. Editorial comment: Oxytocin, vasopressin and social behavior. *Hormones and Behavior* 2012;61(3):227-9.
49. Di Napoli A, Warriar V, Baron-Cohen S, Chakrabarti B. Genetic variation in the oxytocin receptor (OXTR) gene is associated with Asperger Syndrome. *Molecular Autism* 2014;5(1):48.
50. Green L, Fein D, Modahl C, Feinstein C, Waterhouse L, Morris M. Oxytocin and autistic disorder: alterations in peptide forms. *Biological Psychiatry* 2001;50(8):609-13.
51. Teng BL, Nonneman RJ, Agster KL, Nikolova VD, Davis TT, Riddick NV, Baker LK, Pedersen CA, Jarstfer MB, Moy SS. Prosocial effects of oxytocin in two mouse models of autism spectrum disorders. *Neuropharmacology* 2013;70:187-96.
52. Sale A. Environmental Experience and Plasticity of the Developing Brain. *Environmental Experience and Plasticity of the Developing Brain* 2016; 240.
53. Monireh Mansouri, Hamidreza Pouretemad, Mehrdad Roghani, Gregers Wegener², Maryam Ardalan. Role of oxytocin in moderating autistic-like behaviors and hippocampal plasticity in maternal separated rats. *Iranian Human Brain Mapping Congress* 2019.

Daneshvar
Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
27th Year, No.144
December 2019-
January 2020*

Received: 23/09/2019

Last revised: 07/12/2019

Accepted: 15/12/2019

Oxytocin improves autistic-like behaviors induced by maternal deprivation in female rats

Monireh Mansouri¹, Hamidreza Pouretamad^{1*}, Mehrdad Roghani², Gregers Wegener³, Maryam Ardalan⁴

1. Department of Cognitive Psychology, Institute for Cognitive and Brain Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
2. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.
3. Translational Neuropsychiatry Unit, Department of Clinical Medicine, Aarhus University, Denmark.
4. Centre for Perinatal Medicine and Health, Institute of Neuroscience and Physiology, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden.

* Corresponding author e-mail: pouretamad.h@gmail.com

Abstract

Background and Objective: Maternal deprivation as an early life negative experience can lead to enduring disorders such as autism-like behaviors by affecting brain development. Oxytocinergic system alters in the process of maternal deprivation, on the other hand the positive effect of oxytocin on the improvement of social behavior and stereotyped behavior in autism disorder has been shown. In this study, we investigated the effect of oxytocin on maternal deprivation-induced autism-like behaviors in female rats.

Materials and Methods: For this purpose, 32 female rats were divided into four groups. The two groups were separated from the mother 3 hours daily for the first 14 days of life. The other two groups were kept in normal condition. After weaning from each of the two groups (maternal deprivation or control), one group received oxytocin at a dose of 1 mg/kg for five times. At adolescence (PND=42-50), social behavior tests, stereotyped behaviors, and anxiety behaviors were taken. Plasma BDNF levels were also measured.

Results: The present study showed that maternal deprivation led to autism-like behaviors and anxiety behavior in adolescent female rats ($P<0.05$), which were significantly reduced by oxytocin injection ($P<0.05$). Maternal deprivation also resulted in a significant increase in plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) level ($P<0.05$), but oxytocin treatment did not significantly decrease it.

Conclusion: The results of this study showed that oxytocin treatment had an effective role in modulating autistic-like and anxiety behaviors in female rats.

Keywords: Autistic-like behavior, Maternal deprivation, Oxytocin, Brain-derived neurotrophic factor