

# اثر هیدروکورتیزول بر واکنش‌های اضطرابی در موش‌های سوری

عباسعلی وفایی<sup>۱</sup>، عباسعلی طاهریان<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانشیار گروه و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان

<sup>۲</sup> مربی گروه و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان

نشانی نویسنده مسؤول: سمنان، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دکتر عباسعلی وفایی

E-mail: aavaf43@yahoo.com

وصول: ۸۶/۱/۲۰، اصلاح: ۸۶/۹/۱۳، پذیرش: ۸۶/۱۰/۲۶

## چکیده

**زمینه و هدف:** یکی از عوامل مرتبط با اضطراب تغییر سطح هورمون‌های درون‌ریز می‌باشد. مطالعات قبلی حاکی از آن است که احتمالاً گلوکوکورتیکوئیدها می‌توانند نقش تعدیلی بر ترس و اضطراب داشته باشند. لذا هدف پژوهش حاضر تعیین نقش هیدروکورتیزول بر تعدیل اضطراب در مدل ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع در موش سوری می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی از ۷۰ سر موش سوری با میانگین وزنی ۳۰ - ۲۵ گرم استفاده گردید. در ابتدا حیوانات به طور تصادفی به گروه‌های آزمون، شاهد و کنترل تقسیم گردیدند. سپس به گروه‌های آزمون، هیدروکورتیزول ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن به عنوان آگونیست گیرنده گلوکوکورتیکوئید و به موش‌های گروه شاهد، هم حجم آن حلال دارو (اتانول ۲ درصد و سالین) ۳۰ دقیقه قبل از ارزیابی اضطراب به صورت زیر جلدی تزریق شد. گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکرد. سپس موش‌ها در جهت افزایش فعالیت حرکتی و حس کنجکاو به مدت ۵ دقیقه در یک جعبه با دیواره‌های مشکی قرار داده شدند و پس از آن در فواصل زمانی تنظیم شده به ماز به علاوه‌ای مرتفع که یک ابزار استاندارد برای سنجش واکنش‌های اضطرابی است، منتقل گردیدند و به مدت ۵ دقیقه شاخص‌های ارزیابی واکنش‌های اضطرابی (تعداد ورود و درصد زمان صرف شده بر روی بازوی باز) از طریق مشاهده در آن‌ها بررسی و ثبت گردید.

**یافته‌ها:** نتایج این مطالعه نشان داد که هیدروکورتیزول در دوزهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم به طور معنی‌داری زمان و تعداد حضور در بازوی باز را افزایش داده بود که نشانه کاهش رفتارهای اضطرابی می‌باشد ( $P < 0/01$ ). ولی با دوز ۱۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم اثر معنی‌داری نداشت.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های فوق نشان می‌دهد که هیدروکورتیزول وابسته به دوز نقش مهمی در تعدیل واکنش‌های اضطرابی در مدل ارزیابی ماز به علاوه‌ای شکل مرتفع دارد. (مجله دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی سبزوار، دوره ۱۴/شماره ۴/صص ۱۹۷-۱۹۳).

**واژه‌های کلیدی:** اضطراب؛ گلوکوکورتیکوئیدها؛ هیدروکورتیزول؛ موش سوری.

## مقدمه

مبهم دل واپسی است که به صورت علامت هشداردهنده،

خبر از خطری قریب‌الوقوع می‌دهد و موجود زنده را برای

مقابله آماده می‌سازد. این اختلال واکنش موجود زنده

اضطراب هسته اصلی و مرکزی اختلالات

نوروتیک و یک احساس منتشر بسیار ناخوشایند و اغلب

نسبت به یک تهدید درونی است که از انگیزه‌های غریزی بر می‌خیزد و در اصل یک حالت ذهنی است که همه ما آن را بارها تجربه کرده‌ایم و می‌تواند از یک سطح طبیعی تا حالات پاتولوژیک دیده شود (۱). از دیدگاه فیزیولوژیک، اضطراب و استرس واکنش‌های پیچیده‌ای در ارگانیسم هستند که به دنبال مجموعه‌ای از حوادث بیوشیمی و آندوکراین به وسیله استرسورها در نتیجه رفتارهای کوتاه مدت و بلند مدت شروع می‌شود (۲). مطالعات قبلی نشان داده است که سه عامل نروترانسمیتری اساسی با اضطراب ارتباط دارند که شامل نوراپی نفرین، سروتونین و گام‌آمینو بوتیریک اسید می‌باشد به طوری که استفاده از آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های این سیستم‌ها توانسته بر واکنش‌های اضطرابی اثر تعدیلی داشته باشد (۳).

همچنین مطالعات قبلی نشان داده است که تغییر سطح هورمون‌های درون ریز بویژه گلوکوکورتیکوئیدها و استروئیدهای تخمدانی احتمالاً یکی از عوامل مرتبط با اضطراب است. امروزه تغییرات رفتار، خلق و سطح اضطراب متعاقب وقایع بیولوژیک مانند بلوغ، حاملگی، یائسگی و در طول یک سیکل ماهیانه پدیده‌ای شناخته شده است که مربوط به تغییر سطوح و یا نسبت هورمون‌های استروئیدی می‌باشد. مطالعات متعدد دهه اخیر در مورد نقش هورمون‌های استروئیدی، بویژه استروژن و پروژسترون بر اضطراب در مدل‌های تجربی نشان می‌دهد که تغییرات سطح هورمون‌های تخمدانی در طول سیکل ماهیانه تأثیر معنی‌داری بر سطح اضطراب می‌گذارد و تجویز استرادیول به موش‌هایی که تخمدان‌های آن‌ها خارج شده بود، اضطراب را در آن‌ها افزایش داده و تجویز پروژسترون اضطراب را کاهش می‌دهد (۳،۴).

از طرفی شواهد نشان داده است که در جریان تحریک‌های هیجانی و حالات اضطرابی هورمون‌های اختصاصی ترشح می‌شوند که بر تعدیل این حالات تأثیر

می‌گذارند. یکی از هورمون‌های مترشح ناشی از استرس و هیجان و حالات اضطرابی گلوکوکورتیکوئید است که در پاسخ به این رفتارها از قشر غده فوق کلیه ترشح می‌شود. گلوکوکورتیکوئیدها بسیار لیپوفیلک هستند که فوراً وارد مغز شده و مستقیماً به گیرنده‌های خود در داخل سلول (گیرنده گلوکوکورتیکوئید نوع ۲) متصل گردیده و اثرات خود را اعمال می‌کند (۵). شواهد قبلی نیز نشان داده است که فعال شدن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال یک فاکتور مهم در پاسخ‌های اضطرابی و استرسی طبیعی است و همچنین به دنبال حالات اضطرابی و استرسی، سطوح برخی هورمون‌ها بویژه کورتیزول و عوامل نرواندوکراین تغییر می‌کند هر چند در برخی از آن‌ها سطوح پلاسمایی کورتیزون طبیعی بوده است. در برخی از اختلالات روانی مثل افسردگی‌ها نیز سطوح کورتیزول به طور معنی‌داری افزایش نشان داده است (۳).

از آن‌جا که یکی از اهداف اساسی که در آزمایشگاه ما پیگیری می‌شود، اثر گلوکوکورتیکوئیدها بر سیستم عصبی در مدل‌های رفتاری و الکتروفیزیولوژیک می‌باشد و بر اساس مطالعات قبلی، احتمال می‌رود که گلوکوکورتیکوئیدها بتوانند اثرات تعدیلی بر واکنش‌های اضطرابی داشته باشند (۶،۷). هدف این مطالعه تعیین اثر هیدروکورتیزول بر تعدیل واکنش‌های اضطرابی در مدل ارزیابی ماز به علاوه‌ای مرتفع و در موش سوری بوده است.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از ۷۰ سر (۷ گروه ده تایی) موش‌های سوری نر (آلینو) در محدوده وزنی ۳۰-۲۵ گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های ۵ تایی با سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و میزان آب و غذای کافی نگهداری شدند. در ابتدا حیوانات به طور تصادفی به گروه‌های تست، شاهد و کنترل تقسیم گردیدند. سپس به گروه‌های

ورود به بازوهای باز و افزایش مدت زمان سپری شده در بازوی باز، شاخص کاهش اضطراب در موش تلقی می‌شد. همچنین قضاوت در مورد اختلاف معنی‌دار سطح اضطراب بدین صورت بود که اگر همزمان هر دو شاخص (ورود به بازوی باز و مدت سپری شده در آن‌ها) در یک راستا کاهش و یا افزایش یابد و حداقل یکی از آن‌ها تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشته باشد، به عنوان تغییر معنی‌دار سطح اضطراب تلقی می‌شود.

#### گروه‌های آزمایشی:

- ۱- گروه کنترل که هیچ دارویی دریافت نمودند ( $n=10$ ).
- ۲- گروه شاهد که هم حجم دارو، حلال داروی زیر جلدی دریافت نمودند ( $n=10$ ).
- ۳- گروه‌های آزمون که هیدروکورتیزول با دوزهای ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن زیر جلدی دریافت نمودند ( $n=50$ ).

**تجزیه و تحلیل آماری:** در پایان داده‌های گروه‌های مختلف (هفت گانه) هم در قسمت تعداد ورود و هم در قسمت زمان ماندن در بازوی باز با کمک آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی مورد مقایسه و بررسی قرار گرفتند و  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

یافته‌های این مطالعه نشان داد که هیدروکورتیزول با دوزهای ۲۵ و ۵۰ باعث کاهش علائم اضطراب شده است به طوری که در مقایسه با گروه کنترل حیوانات تعداد ورود بیشتر و مدت زمان بیشتری را بر روی بازوی باز طی نموده‌اند و بررسی آماری تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد ( $P < 0/01$ ). در حالی که هیدروکورتیزول با دوز ۱۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم تأثیر معنی‌داری نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که فعالیت گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئید وابسته به دوز نقش مهمی در کاهش واکنش‌های اضطرابی در مدل ارزیابی ماز بعلاوه‌های دارد (شکل ۱ و ۲).

آزمون، هیدروکورتیزول (ساخت شرکت سیگما) و در دوزهای ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن به عنوان آگونیست گیرنده گلوکوکورتیکوئید ۳۰ دقیقه قبل از ارزیابی واکنش‌های اضطرابی به صورت زیر جلدی تزریق شد. لازم به ذکر است که ابتدا دارو در اتانول ۹۶ درصد حل گردید و سپس با کمک سالی‌ن رقیق گردید تا اتانول آن به ۲ درصد تقلیل یابد. همچنین به موش‌های گروه شاهد، هم حجم آن، حلال دارو (اتانول ۲ درصد و سالی‌ن) تزریق شد و گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکرد.

#### دستگاه ارزیابی سطح اضطراب: برای ارزیابی

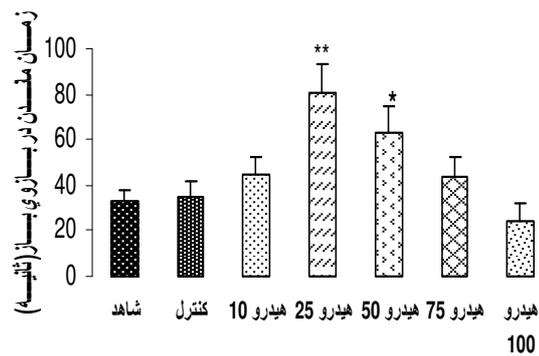
اضطراب از دستگاهی به نام، ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع (Elevated plus-maze) استفاده شد که مدل استاندارد جهت ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است. این دستگاه از چوب ساخته شده و دارای دو بازوی باز (هر یک  $10 \times 50$  سانتیمتر) و دو بازوی بسته (هر یک  $40 \times 50 \times 5$  سانتی‌متر) و یک کفه مرکزی ( $5 \times 5$  سانتی‌متر) است که بازوهای باز روبروی هم و بازوهای بسته هم روبروی یکدیگر قرار دارند و حدود ۵۰ سانتی‌متر از کف اطاق بالاتر قرار می‌گیرد. این مدل تجربی سنجش اضطراب غیر شرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد (۴، ۷).

**روش آزمایش:** در صبح روز آزمون حیوانات به آزمایشگاه منتقل شده و داروی مورد نظر در دوزهای مختلف ۳۰ دقیقه قبل از ارزیابی اضطراب و در فواصل زمانی مشخص به صورت زیر جلدی تزریق گردید. سپس هر موش به طور جداگانه، ۵ دقیقه قبل از آزمایش به اطاق کار منتقل و در جعبه‌ای به ابعاد  $30 \times 40 \times 30$  سانتی‌متر قرار می‌گرفت تا فعالیت جستجوگرانه (Explorative activity) حیوان افزایش یابد. سپس به مدت ۵ دقیقه در ماز (قسمت کفه و رو به بازوی باز) قرار داده شده و شاخص‌های استاندارد ارزیابی اضطراب از طریق مشاهده آن بررسی و فعالیت‌های جستجوگرانه ثبت شد و افزایش

افزایش مدت زمان سپری شده در آن شد که بیانگر کاهش واکنش‌های اضطرابی می‌باشد در حالی که با دوز خیلی پایین و دوز بالا این اثرات دیده نمی‌شود. این نتایج برای اولین بار نشان می‌دهد که این واکنش‌ها می‌توانند تحت تأثیر هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی قرار گیرد. این یافته‌ها با نتایج مطالعه‌ای که نشان می‌داد تزریق استروئیدها (استرادیول و پروژسترون) موجب تعدیل واکنش‌های اضطرابی شده بود می‌شود (۴)، همخوانی دارد.

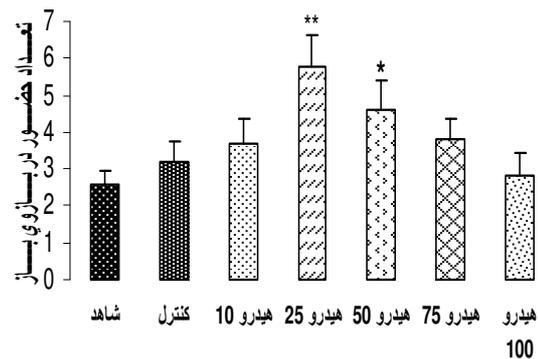
از طرفی شواهد قبلی نشان داده است که نواحی مختلف سیستم لیمبیک حاوی تراکم متوسط تا بالایی از گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی بوده و یکی از جایگاه‌های هدف برای آن‌ها محسوب می‌شود. همچنین مطالعات قبلی نشان داده است که آزاد شدن این هورمون‌ها به دنبال استرس اثرات رفتاری فراوانی در این ناحیه داشته و فعال شدن گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی در این ناحیه نقش مهمی در واسطه‌گری اثرات تزریق محیطی آن‌ها دارد (۵). ضمناً از آن‌جا که یک سری از هسته‌های نواحی لیمبیک مانند آمیگدال نقش شناخته شده‌ای در تعدیل ترس و اضطراب بازی می‌کنند و دیده شده است که تخریب سیستم لیمبیک و قشر تمپورال موجب تغییر در واکنش‌های ترس و اضطراب می‌شود (۲) و از طرفی مسیر سیتو-هیپوکمپال نقش غالب در عملکرد فیزیولوژیک حالات اضطرابی دارد (۸,۹)، بنابراین در مطالعه حاضر این احتمال وجود دارد که گلوکوکورتیکوئیدها با واسطه‌گری این نواحی موجب تعدیل اضطراب شوند.

همچنین گلوکوکورتیکوئیدها می‌توانند از طریق سیستم‌های نورترانسسمیتری و واسطه‌های عصبی مختلف و در نقاط ویژه‌ای از مغز در تعدیل رفتارهای اضطرابی دخالت داشته باشند و دیده شده است که سیستم‌های آدرنژیک و گلوکوکورتیکوئیدها اثرات متقابل فراوانی بر همدیگر دارند و تزریق آنتاگونیست بتا آدرنژیک به



شکل ۱: زمان ماندن در بازوی باز به دنبال تزریق زیر جلدی هیدروکورتیزول نیم ساعت قبل از تست ارزیابی اضطراب در مقایسه با گروه شاهد و کنترل را ( $P < 0.01$ ) و ( $P < 0.05$ ).

ستون عمودی نشان دهنده درصد زمان حضور در بازوی باز در طی ۵ دقیقه ارزیابی می‌باشد.



شکل ۲: میانگین تعداد ورود های حیوان به بازوی باز به دنبال تزریق هیدروکورتیزول نیم ساعت قبل از تست ارزیابی اضطراب در مقایسه با گروه شاهد و کنترل ( $P < 0.01$ ) و ( $P < 0.05$ ). ستون عمودی نشان دهنده تعداد ورود به بازوی باز در طی ۵ دقیقه ارزیابی می‌باشد.

## بحث

در این مطالعه تأثیر هیدروکورتیزول (آگونیست گیرنده گلوکوکورتیکوئیدی) بر تعدیل واکنش‌های اضطرابی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که تجویز هیدروکورتیزول وابسته به دوز و در دوزهای متوسط موجب افزایش ورود حیوانات به بازوی باز و

داخل نواحی لیمبیک اثرات سیستمیک گلوکوکورتیکوئیدها را بلوک می‌کند. بر این اساس شواهد زیادی نشان داده‌اند که گلوکوکورتیکوئیدها اثرات خود را از طریق فعال نمودن سیستم آدرنژیک در این ناحیه اعمال می‌کنند (۳). از آنجا که یکی از سیستم‌های اساسی دخیل در تعدیل واکنش‌های اضطرابی سیستم آدرنژیک می‌باشد، احتمال می‌رود که گلوکوکورتیکوئیدها از طریق این سیستم بر اضطراب اثر داشته باشند (۱۰).

همچنین مطالعات قبلی نشان داده است که با افزایش تولید نیتریک اکساید، میزان اضطراب افزایش یافته و با مهار تولید آن اضطراب کاهش می‌یابد (۴) و تغییر فعالیت نیتریک اکساید سنتاز با مکانیسم اثر تعدیلی هورمون‌های استروئیدی بر سیستم‌های نورترانسسمیتری دیگر مغز مانند گابا و سروتونین صورت می‌گیرد (۱۱).

وجود ارتباط سیناپسی بین نرون‌های گابارژیک و نرون‌های گلوتامینرژیک در برخی از مناطق مختلف مغز مانند بخش خلفی رافه این احتمال را تقویت می‌کند که اثر هورمون‌های استروئیدی با واسطه سیستم گابارژیک صورت می‌پذیرد و در همین زمینه ثابت شده است که استروژن موجب تضعیف و پروژسترون باعث تقویت انتقال عصبی گابارژیک در سیستم عصبی مرکزی می‌شود. از آنجا که درصد زیادی از مسیرهای عصبی را دو سیستم گابارژیک و گلوتامینرژیک تشکیل داده و این دو سیستم در تنظیم سطح اضطراب با یکدیگر تعامل داشته و عملکرد این دو، نقش مهمی در تعیین سطح اضطراب دارد (۴)، بنابراین احتمال دیگری وجود دارد که گلوکوکورتیکوئیدها از طریق اثرات تعدیلی بر سیستم‌های گابا و گلوتامینرژیک موجب تعدیل واکنش‌های اضطرابی شوند.

همچنین شواهد اخیر نشان داده است که بیان mRNA آنزیم نیتریک اکساید سنتاز و میزان فعالیت آن می‌تواند توسط هورمون‌های استروئیدی تنظیم شود.

استروژن موجب افزایش بیان این آنزیم و تولید نیتریک اکساید می‌شود. با توجه به ماهیت مولکول نیتریک اکساید به عنوان یک میانجی و تعدیل‌کننده در سیستم عصبی و نیز اثر تنظیمی هورمون‌های استروئیدی بر آن به نظر می‌رسد که احتمالاً بخشی از اثر هورمون‌های استروئیدی با واسطه رهایش نیتریک اکساید اعمال شود (۱۴-۱۲). بنابراین احتمال دیگری وجود دارد که گلوکوکورتیکوئیدها هم از طریق اثر بر نیتریک اکساید موجب تعدیل واکنش‌های اضطرابی شوند.

از طرفی نتایج این مطالعه نشان داد که هیدروکورتیزول با دوز متوسط موجب کاهش اضطراب شده و با دوز پایین‌تر و بالا اثر ندارد. برای بررسی این که این اثرات چگونه اعمال می‌شود، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که اثرات گلوکوکورتیکوئیدها به صورت U معکوس (Inverted U) اعمال می‌گردد به طوری که در دوزهای پایین و بالا نسبت به دوز متوسط اثرات متفاوتی بر سیستم عصبی مرکزی اعمال می‌کنند و پیشنهاد شده است که احتمالاً این اثرات به میزان اشباع شدن گیرنده‌ها مرتبط می‌باشد (۵). البته این اثرات در مطالعات رفتاری دیگر مانند یادگیری و حافظه هیجانی هم به صورت U معکوس دیده می‌شود (۵، ۱۰). بر این اساس در این مطالعه هم احتمالاً اثرات وابسته به دوز آنها ناشی از این اثر است. از آنجا که ساز و کار دقیق نحوه اثرگذاری این هورمون‌ها بر رفتارهای اضطرابی هنوز به روشنی شناخته نشده است به منظور شناخت دقیق‌تر مکانیسم‌های دخیل و دیگر سیستم‌های نورترانسسمیتری، مطالعات و پژوهش‌های بیشتری احساس می‌گردد. به طور کلی یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که گلوکوکورتیکوئیدهای وابسته به دوز نقش مهمی در تعدیل واکنش‌های اضطرابی در مدل ارزیابی ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع بازی می‌کنند.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاران محترم مرکز تحقیقات

انجام آزمایش‌ها ما را یاری نمودند، صمیمانه تقدیر به  
 عمل می‌آید. آقای و خانم دکتر ملاحاهی که در  
 فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان به ویژه آقای  
 صادقی، و آقای محمدی و خانم دکتر ملاحاهی که در

## References

1. Kaplan HI, Sadock BJ, Sadock, VA, editors. Comprehensive textbook of Psychiatry. New York: Lippincott Williams & Wilkins: 2004.
2. Nutt DJ. Neurobiological mechanisms in generalized anxiety disorder, *J Clin Psychiatry*. 2001; 62(Suppl.11): 22-7.
3. Schramm NL, McDonald MP, Limbird LE. The alpha(2a)-Adrenergic receptor plays a protective role in mouse behavioral models of depression and anxiety. *J Neurosci*. 2001, 21(13): 4875-82.
- 4- صوفی آبادی محمد. صادقی پور حمیدرضا. شعبان زاده علیرضا. زرین دست محمد رضا. دهپور احمد رضا. بررسی نقش واسطه ای نیتریک اکساید در تأثیر هورمون های استروژن و پروژسترون بر اضطراب در موش صحرایی ماده. مجله علمی و پژوهشی کومش، جلد ۲ شماره ۳ و ۴، صفحات ۱۳۸ و ۱۷۷ تا ۱۸۵.
5. Roozendaal B, McGaugh JL. Glucocorticoids receptor agonist and antagonist administration into the basolateral but not central amygdala modulates memory storage. *Neurobiol Learn Mem*. 1997; 67: 176-9.
6. Velisek L. Prenatal exposure to betamethasone decreases anxiety in developing rats: hippocampal neuropeptide y as a target molecule. *Neuropsychopharmacol*. 2006; 31(10): 2140-9.
7. Boyle MP, Kolber BJ, Vogt S, Wozniak DF, Muglia LJ. Forebrain glucocorticoid receptors modulate anxiety-associated locomotor activation and adrenal responsiveness. *J Neurosci*. 2006; 26(7): 1971-8.
8. Belzung C, Griebel G. Measuring normal and pathological anxiety-like behavior in mice: a review. *Behav Brain Res*. 2001; 125(1-2): 141-9.
9. Hodge CW, Raber J, McMahon T, Walter H, Sanchez-Perez AM, Olive MF, et al. Decreased anxiety-like behavior, reduced stress hormones, and neurosteroid super sensitivity in mice lacking protein kinases Cepsilon. *The Journal of Clinical Investigation*. 2002; 110(7): 1003-10.
10. Soravia LM, Heinrichs M, Aerni A, Maroni C, Schelling G, Ehler U, et al. Glucocorticoids reduce phobic fear in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103(14): 5585-90.
11. Leonard BE. The HPA and immune axes in stress: the involvement of the serotonergic system. *Eur Psychiatry*. 2005; 20 Suppl 3: S302-6.
12. Anagnostaras SG, Craske MG, Fanselow MS. Anxiety: at the intersection of genes and experience. *Nature Neurosci*. 1999; 2(9): 780-2.
13. Quock RM, Nguyen E. Possible involvement of nitric oxide in chlordiazpoxide-induced anxiolysis in mice. *Life Sci*. 1992; 51: PL255-260.
14. Volke V, Soosaar A, Koks S, Bourin M, Mannisto PT, Vasar E. 7-Nitroindazol has anxiolytic-like properties in exploratory models of anxiety, *Psychopharmacol*. 1997; 131: 399-405.