

Tartu Ülikool  
Sotsiaalteaduste valdkond  
Psühholoogia instituut

Liisi Grünbaum

**Endogeense oksütotsiini ja tema retseptori seos püsisotsiaalsusega**

Uurimistöö

Juhendajad: Prof Jaanus Harro

Kai Tiitsaar, MA

Tartu 2017

Endogeense oksütotsiini ja tema retseptori seos püsisotsiaalsusega

### **Kokkuvõte**

Kestvate sotsiaalsete kontaktide loomise ja säilitamise aluseks on sotsiaalne käitumine. Töö eesmärk oli uurida, kas püsisotsiaalsus kui pidev joon looma käitumises võib olla seotud nonapeptiidi oksütotsiini ning oksütotsiini retseptorite tasemetega. Selleks mõõdeti oksütotsiini (OT) ja oksütotsiini retseptorite (OTR) tase isastel täiskasvanud rottidel ex vivo (n= 20) Western bloti meetodil hüpotaalamuses, hipokampuses ning striatumis. Püsisotsiaalsust hinnati Tõnissaar jt 2004. aasta uuringus sotsiaalse interaktsiooni testiga (SI). Tegemist on esimese uuringuga, kus analüüsitakse püsisotsiaalsuse ja tsentraalse endogeense oksütotsiini vahelisi seoseid. Tulemused näitasid, et puudus seos uuritavate piirkondade OT ning OTR suhtelise hulga ning keskmisega SI testi ajaga. Tuleviku tööd võiksid uurida endogeense oksütotsiini mõju püsisotsiaalsusele, kasutades SI testis nii isas- kui emasloomi. Samuti ei ole teada, kas roti erinevates vanusefaasides on oksütotsiini tasemed tsentraalses süsteemis erinevad ja kas varasem sotsiaalne kogemus avaldab mõju täiskasvanu ea sotsiaalsele käitumisele.

Tähtsamad märksõnad: oksütotsiin; retseptor; sotsiaalne käitumine; sotsiaalse interaktsiooni test; hüpotaalamus; hipokampus; striatum

## Endogenous oxytocin and its receptor association with sociability trait

### **Abstract**

Social behaviour is essential for creating and maintaining permanent social relationships. The objective of this study was to investigate whether sociability trait in animal behaviour is associated with nonapeptide oxytocin and its receptors levels. Oxytocin (OT) and its receptor (OTR) levels were measured in male adult rats ex vivo (n=20) in hypothalamus, hippocampus and striatum using Western blot analysis. Sociability trait was assessed by Tõnissaar et al. in the 2004 study with social interaction (SI) test. This work is first of its own kind where the association of sociability trait and endogenous oxytocin system is studied. The results showed no association between OT or OTR levels in particular area and mean time in SI test. Future work should investigate endogenous OT effect on sociability using both male and female rats. Also it is not known whether there are differences in OT levels in the central system during different developmental periods and whether early social experiences influence social behaviour of an adult rat.

Keywords; oxytocin; receptor; social behaviour; social interaction test; hypothalamus; hippocampus; striatum

## Sissejuhatus

Oksütotsiin on nonapeptiid, mis osaleb selgroogsetel nii tsentraalse kui perifeerse närvisüsteemi töös. Oksütotsiini traditsiooniliseks ülesandeks on sünnituse esilekutsumine koos piima eritumise algatamisega, aga ka vanemliku hoole teket juhtida (Olazábal ja Young, 2006; Keebaugh, Barret, LaPrarie, 2015). Viimastel aastakümnetel on hakatud uurima oksütotsiini süsteemi (oksütotsiin ning tema retseptor) mõju sotsiaalsetele suhetele. Need uuringud näitavad oksütotsiini seost prosotsiaalsete käitumistega, nagu kiindumuskäitumise kujunemine (Lim ja Young, 2006), sotsiaalne äratundmine (Ferguson, Young, Hearn, Matzuk, Insel, Winslow, 2000), suurenenud aeg sotsiaalseks kontaktiks (Witt ja Insel, 1992; Bales ja Carter, 2003), vanemlik agressioon ja hool (Bosch ja Neumann, 2012), lähenemiskäitumine (Radke jt, 2017), sotsiaalne vältimine (Lukas jt, 2011) ning partneri eelistus (Bales ja Carter, 2003). Lisaks prosotsiaalsust juhtivale rollile võib oksütotsiinil olla nii ärevust alandav roll kui ka stressreaktsiooni pidurdav mõju stressirohkes olukorras. Seda on näidanud uuringud, kus leiti oksütotsiinil neid ülesandeid vahendav roll limbilises süsteemis ja hüpotaalamuses paraventrikulaartuumas (Radke jt, 2017; Blume jt, 2008; Smith ja Wang, 2014).

Üha enam on hakatud huvi tundma selle nonapeptiidi võimaliku kasutamise vastu psüühika- ja käitumishäirete, nagu skisofreenia, autism, depressioon, ärevushäired ja posttraumaatiline stresshäire ravimisel (Matsuzaki, Matsushita, Tomizawa, Matsui, 2012; Sack jt, 2017), kuna kasvab inimeste arv, kellel diagnoositakse loetletud häireid. Praeguseks on leitud, et oksütotsiini manustamine nii loom- kui inimuuringutes aitab leevendada autismi või Aspergeri sündroomi sümptomeid (Teng jt, 2013; Andari jt, 2010). USA-s on kasvanud erihoolt vajavate autismispektrihäirega 6-22 aastaste haigete arv 15 580 lapselt (1992. aastal) kuni 141 022 (2003. aastal) lapseni (European Commission Health and Consumer Protection Directorate-General, 2005). Autismi ja Arenguhäirete Vaatlusvõrgustiku (ADDM) andmetel oli 2008. aastal USA-s hinnanguliselt iga 88-s 8-aastane laps autismispektrihäirega, aastaks 2010 oli haigestumise määr juba üks laps 68-st (Baio, 2012; Baio, 2014). Sotsiaalfoobiat esineb 6,8 protsendil täiskasvanutest (n=9282) USA-s (Kessler, Chiu, Demler ja Walters, 2005). Seega suureneb inimeste arv, kes ei tule toime igapäeva sotsiaalsetes toimingutes ning vajavad selleks abi riigilt erinevate toetus- ja teraapiaprogrammide näol, mis nõuavad suuri investeeringuid. Kui oleks võimalik, et neid asendaks ravim, mis oleks odavam raviviis võrreldes teiste ravivõimalustega, saaks suunata sotsiaalraha teistesse valdkondadesse.

## Sotsiaalsus

Sõnaga isiksus tähistatakse tavaliselt neid käitumise, mõtlemise ja tunnete aspekte, mille poolest inimesed üksteisest erinevad, mis iseloomustavad eri inimesi erisugusel määral. Kui teatud käitumine esineb sageli ning ja paljudes erinevates olukordades, võib seda nimetada isiksuseomadusteks. Isiksuseomadused on võrdlemisi püsivad inimese käitumise, mõtlemise või tunnete erinevused (Allik&Rauk, 2006). Tavapärasem arvamus on, et põhilisi isiksuse seadumusi on viis: ekstravertsus, neurootilisus, avatus kogemusele, meelekindlus ning sotsiaalsus (Digman, 1990). Loomadel esinev temperament on olemuselt võrreldav inimese iseloomuga, kuna kirjeldab sarnaselt selle mitmesuguste omaduste varieerumist indiviiditi (Koosa, 2016). Isiksuse varieerumine on tähelepanuväärse evolutsioonilise ja ökoloogilise tähtsusega, kuna iseloom määrab loomade tundlikkuse elukeskkonnale (Koosa, 2016; Boissy 1995; Dall, Houston ja McNamara, 2004). Looma temperamendi alusel võib käitumist jagada viide kategooriasse: agressiivsus, vältimiskäitumine, riskikäitumine, avastamisaktiivsus, sotsiaalsus (Réale jt, 2007). Loomade sotsiaalse käitumise all mõistetakse käitumist, mis esineb kahe või enama samaliigilise isendi vahel (Koenig ja Dickinson, 2017). Mitmeid sotsiaalse käitumisaktide mustreid (näiteks sotsiaalne kontakt, agressiivsus, emahool, partnerieelistus, vältimiskäitumine jne) saab kvantitatiivselt väljendada (Farrell, Holland ja Brenhouse, 2016; Sams-Dodd, 1995b). Loendavateks käitumisaktideks võivad olla näriliste uuringutes kas mängulised või agressiivsed näitajad, nagu üksteise peale hüppamine, pealt ja alt ronimine, tagaajamine, sugemine, kehtestamine, võitlemine, maadlemine, ärritumine, genitaalide nuuskimine või hammustamine (Sams-Dodd, 1995b; Vanderschuren, Niesink, Van Ree, 1997).

Sotsiaalse käitumise eri aspektide uurimiseks tuleb valida sobivaim meetod, lähtudes uuringu eesmärgist. Sotsiaalne interaktsioon ehk vastastikune suhtlemine kahe või enama samaliigilise isendi vahel (Koenig ja Dickinson, 2017) on väga lai mõiste, milles puudub konkreetsus, kelle vahel ja milline suhtlemisviis kõne all on. Ka nimetus sotsiaalse interaktsiooni test ei anna head ülevaadet, missugune on meetodi sisu, sest üldjuhul kasutatakse sotsiaalset interaktsiooni spetsiifilise olukorra vaatlemiseks. Üheks võimaluseks näiteks on SI testiga uurida sotsiaalset lähenemist või vältimist, mis sobivad eelkõige sotsiaalse huvi väljenduse mõõtmiseks partneri suhtes. Sotsiaalne huvi peegeldub motivatsioonis läheneda liigikaaslasele ning jälgida saab, kuidas algatatakse sotsiaalseid kontakte ja kaua need kestavad (Fairless, Shag, Guthrie, Li ja Brodtkin, 2011). Selleks sobivad sotsiaalse eelistuse (*social preference test*), sotsiaalse eraldatuse (*partition test*) ja sotsiaalse lähenemise (*social approach test*) testid. Testide eesmärgiks on jälgida kontakti loomist, st kas uuritav isend tahab teist katselooma vältida või

uudistada ning sobivad ennekõike lähenemiskäitumist uurivasse katsesse (Fairless jt, 2011).

Käesolevas töös kasutati seda sotsiaalse interaktsiooni (SI) testi, mille arendasid välja File ja Hyde (1978), et mõõta ärevust tõstvate või vähendavate ravimite mõju sotsiaalsele käitumisele, kasutades selleks sotsiaalse interaktsiooni keskkonda, mis tekib kahe roti omavahelisel suhtlemisel. Autorid võrdlesid nelja katsetingimust: hämar valgus ja tuttav ala (ärevuse madalaim tase); ere valgus ja tuttav ala; hämar valgus ja võõras ala (mõlemad ärevuse keskmine tase); ere valgus ning võõras ala (ärevuse kõrgeim tase). Uuringust selgus, et lisaks ärevuse mõõtmisele väheneb või suureneb sotsiaalne interaktsioon vastavalt katsetingimusele: sotsiaalne interaktsioon kestab kauem, kui katseloomad paiknevad tuttavas alas ning hämara valgusega alas ning vähem, kui paiknevad eredas valguses ja võõras alas (File ja Seth, 2003). Sotsiaalse interaktsiooni tulemustes esineb ka soolisi erinevusi (File ja Seth, 2003). Näiteks ei suurene emastel rottidel SI aeg soodsates tingimustes, nagu tuttavas alas paiknemine. Ka toovad autorid välja enne testimist kogetud stressi mõju SI ajale: isased rotid, keda hoiti 24 päeva enne testimist müra keskkonnas, oli vähem sotsiaalset interaktsiooni võrreldes isaste rottidega, kes paiknesid vaiksetes tingimustes. SI testi eeliseks võrreldes eelnevalt mainitud testidega on ökoloogiline valiidsus: vabalt suhtlevate hiirte käitumine sarnaneb looduslikus keskkonnas metsikult kasvavate hiirte omale. Et suurendada suhtlemist SI testimisel ajal, majutatakse katseloomad tavaliselt nädal aega enne testimist üksikpuuridesse (File ja Seth, 2003).

SI testiga saab mõõta sotsiaalse tegevuse erinevaid külgi (näiteks nina-nina vastas nuuskimine, teisele loomale järgnemine, füüsiline kontakt, ultraheli häälitsused), mille tõttu saab teha mitmesuguseid järeldusi käitumise kohta (Crawley, 2014). Nii on varasemalt SI testiga mõõdetud ja võrreldud omavahel konkreetseid tegevusi, nagu kaugus loomast, lähenemis- ja vältimiskäitumine, nina-nina vastas kontakt, et jälgida varajase stressi mõju noorlooma sotsiaalsele käitumisele (Farrell, Holland ja Brenhouse, 2016). Ka on SI testiga uuritud, kas amfetamiin ja fentsükliidiin omavad mõju rottide sotsiaalse käitumise spetsiifilistele tegevustele (Sams-Dodd, 1995). Selleks pandi SI testi ajal kirja sotsiaalse tegevuse kordumiste arv ning mõõdeti aega, mis kulus tegevustele, nagu uudistamine, avastamine, pidev stereotüüpiline käitumine ühe koha peal, tagakäppadele tõus (*rearing*), teisele rotile järgnemine (Sams-Dodd, 1995). Seega SI testi üheks võimaluseks on mõõta ja võrrelda ühele konkreetsele käitumisaktile kulunud aegu.

Teiseks võib mõõta SI testis kogu aktiivsele sotsiaalsele interaktsioonile kulunud aega. Tõnissaar, Philips, Eller ja Harro (2004) uurisid oma töös, kas rotil eksisteerib stabiilne

sotsiaalne loomus. Selleks kasutasid autorid File ja Hyde (1978) SI testi, kus hinnati kahe isasroti omavahelist sotsiaalset käitumist neljal testimiskorral (iga kord võõra partneriga) ning mõõdeti sotsiaalsele interaktsioonile kulunud aega. Tulemustest selgus, et nelja testi sotsiaalse interaktsiooni keskmine aeg oli seotud üksiktestide sotsiaalsele interaktsiooni ajaga. Seda tulemust võib pidada oluliseks, kuna kinnitas, et sotsiaalse interaktsiooni testi meetodiga saab mõõta, kas roti sotsiaalne loomus on stabiilne omadus (Tõnissaar jt, 2004).

### **Perifeerne oksütotsiini süsteem**

Perifeerse oksütotsiini süsteemi traditsiooniline ülesanne on esile kutsuda sünnitust ja stimuleerida emaka kokkutõmbeid. Retseptorvalk avaldub inimesel sünnitusel kolmes kohas: munasarjas, emaka seinas ning emaka limaskestas (Gimpl ja Fahrenholz, 2001). Sünnituse varajases faasis tõuseb oksütotsiini retseptorite hulk nii inimestel kui rottidel 200 korda kõrgemaks kui rasedusvälisel perioodil. Pärast sünnitust langeb oksütotsiini retseptorite tase üsna kiiresti, et vältida tarbetuid kokkutõmbeid, ning tõuseb taas imetamise alguses. Emaka oksütotsiini retseptorite sidumist aitavad reguleerida naissuguhormoonid progesteron ja östrogeen: progesteron takistab oksütotsiini sidumist ning östrogeen vastupidiselt tõstab (Soloff jt, 1983).

Seos perifeerias ja tsentraalses süsteemis oleva oksütotsiini vahel on ebaselge nii inim- kui loomkatsetes. Varasemalt on näidatud, et endogeenne oksütotsiin väljaspool peaju organismis võib mõjutada häiritud sotsiaalset käitumist (Valstad, Alvares, Andreassen, Westlye, Quintana, 2016). Inimestel on oksütotsiini madalamat taset plasmas seostatud autismi (Modahl jt, 1998) ning skisofreeniaga (Rubin jt, 2010). Proove perifeeriast ei ole keeruline koguda sülje, uriini või vere kaudu, kuid pole teada, kas need mõõtmised saab siduda tsentraalse oksütotsiini tasemega (Valstad jt, 2016). Näiteks loomkatsetes on avastatud, et oksütotsiini taseme tõus ajus on koordineeritud väljaspool peaju oleva oksütotsiini tasemega (Ross jt, 2009; Wotjak jt, 1998), millele osa uurijaid pole leidnud kinnitust (Amico, Challinor, Cameron, 1990; Moghimi jt, 2013). Ka inimestel tehtud uuringutes leidub vastuolulisi tulemusi (Valstad jt, 2016). Lastel ja täiskasvanutel on avastatud, et plasma oksütotsiini kontsentratsioon korreleerus positiivselt seljaajuvedelikus leiduva oksütotsiini tasemega (Carson jt, 2014), kuigi seda seost ei leitud varasemas uuringus (Kagerbauer jt, 2013). Üheks vastuoluliste tulemuste põhjuseks võib olla aju-verre barjääri võime eraldada ajusisest endogeenset oksütotsiini ajuvälisest oksütotsiinist. See tähendab, et oksütotsiin väljaspool peaju ning ajus töötab iseseisvalt, aga

mingites tingimustes, näiteks sünnituse ajal, toimib ühtselt (Landgraf ja Neumann, 2004).

### **Tsentraalne oksütotsiini süsteem**

Kui oksütotsiini ja tema retseptorite leidumine ning ülesanne perifeerias on hästi teada, siis tsentraalses süsteemis paiknev oksütotsiini vajab lähemat uurimist, kuna puudub täpne ülevaade, milliseid protsesse oksütotsiin erinevates ajupiirkondades juhib. Rottidel paikneb oksütotsiin peamiselt kahes tuumas: supraoptilises ja paraventrikulaartuumas, kust kulgevad oksütotsiini neuronite närvikiud magnotsellulaarsete neuronite aksonite kaudu ajuripatsi tagasagarasse, mis reguleerib paaritumist, sünnitus- ja imetamisprotsesse (Gimpl ja Fahrenholz, 2001). Dendriitide kaudu toimub mõlemas tuumas autoregulatsioon ning endokannabinoidide stimulatsioon, lisaks kulgevad paraventrikulaartuumast närvikiud ventraaltegmentaalalasse, hipokampusse, ajutüve ja seljaaju, kus oksütotsiin juhib erektsiooni ning ejakulatsiooni teket, maoprotsesse, hingamist (Baskerville ja Douglas, 2010). Oksütotsiini sisaldus roti supraoptilises tuumas on ligikaudu 100-1000 korda suurem võrreldes vereplasmaga (Landgraf ja Ludwig, 1991). Lisaks asuvad oksütotsiini retseptorid rottide ajus mitmetes piirkondades, nagu ajukoos, haistesüsteemis, basaalganglionides, limbilises süsteemis, taalamuses, hüpotaalamuses, ajutüves, seljaajus (Barberis ja Tribollet, 1996; Tribollet jt, (1992). Hüpotaalamuses sünteesitud oksütotsiin viiakse vajadusel ajuripatsi tagumisse osasse, kus see vabastatakse vereringesse (Leng, Ludwig ja Douglas, 2011). Hüpotaalamuses oleva oksütotsiini ülesandeks on peamiselt reguleerida ärevust stressirohkes olukorras (Smith ja Wang, 2014; Blume jt, 2008). Paraventrikulaartuumas paiknev oksütotsiin aitab vähendada hiirtel stressijärgset ärevust ning on vajalik stress-puhvri (social buffer) ehk sotsiaalse toetuse toimimiseks stressirohke sündmuse järel (Smith ja Wang, 2014). Katses kasutati emaseid uruhiiri, kellel piirati füüsiline aktiivsus üheks tunniks, et esile kutsuda stress-reaktsioon. Emased taastusid pärast vangistust kas isase rotiga või üksinda 30 minutit ning siis hinnati ärevuslaadne käitumine tõstetud pluss-puuri testiga. Tulemused näitasid, et üksinda taastuvate emaste ärevuslaadne käitumine oli kõrgem, võrreldes partneriga taastunud emastest ning kontrollgrupist. Seda efekti ei esinenud, kui partneriga taastuvale emale taastumise ajal süstiti paraventrikulaartuumas selektiivset oksütotsiini retseptori antagonistit. Seega on paraventrikulaartuumas asuvad oksütotsiini retseptorid vajalikud stress-puhvri toimimiseks (Smith ja Wang, 2014). Isastel rottidel alandab ärevust juurde manustatud oksütotsiin hüpotaalamuse supraoptilises tuumas stressirohkes situatsioonis (Blume jt, 2008).

Oksütotsiini ülesanneteks striatumis on stabiilsete sotsiaalsete suhete loomine, hoolitsuskäitumine ja partneri eelistus (Liu ja Wang, 2003; Keebaugh jt, 2015). Emastel preeria uruhiirtel on näidatud, et manustades aju vatsakeste süsteemi oksütotsiini või dopamiini D<sub>2</sub> retseptorite agonisti naalduvasse tuuma, veedavad emased tunduvalt rohkem aega oma partneri seltsis kui võõra liigikaaslasega. Naalduvas tuumas toimub ka dopamiini ja oksütotsiini oluline koosmõju: oksütotsiini retseptorite blokeerimine ei tõsta partneri eelistust ka pärast dopamiini D<sub>2</sub>-tüüpi retseptorite stimuleerimist; kui oksütotsiini toimetel on juba tekkinud oma partneri eelistus, kaob see dopamiini D<sub>2</sub> retseptorite blokeerimisel. Seega on vaja partnerieelistuse stabiilseks väljakujunemiseks striatumis nii dopamiini D<sub>2</sub> retseptoreid kui oksütotsiini retseptoreid (Liu ja Wang, 2003). Olazábal ja Young (2006a) uurisid hoolitsuskäitumist erinevate näriliste seas ning leidsid, et oksütotsiini retseptori tihedus oli preeria uruhiirtel suurim naalduvas tuumas ning putaamenis. Oksütotsiini retseptorite alandamisel naalduvas tuumas, vähenes emaste preeria uruhiirte hoolitsuskäitumine ja häirus partneri eelistuse kujunemine (Keebaugh jt, 2015). Kuigi oksütotsiini mõju sotsiaalsele käitumisele striatumis on varasemalt uuritud peamiselt uruhiirte peal, on leitud seoseid stabiilse sotsiaalse käitumisega.

Selleks, et paremini mõista, kuidas on oksütotsiin seotud kognitiivsete, käitumuslike ja vaimsete häirete protsessidega, saab kasutada kolme laiemat lähenemist. Esiteks saab jälgida aju neurobioloogilisi efekte pärast oksütotsiini või platseebo manustamist; teiseks võib võrrelda oksütotsiini baaskontsentratsiooni patoloogilisel grupil ja kontrollgrupil; kolmandaks saab hinnata oksütotsiini baaskontsentratsiooni kovarieerumist mitmete psühholoogiliste näitajatega (Valstad, Alvares, Andreassen, Westlye, Quintana, 2016). Käesolevas töös kasutati kolmandat varianti, hinnates loomkatses endogeense oksütotsiini ja tema retseptori hulga kovarieerumist püsiva omadusega, nagu sotsiaalsus. Teadaolevalt pole varem uuritud endogeense oksütotsiini suhtelist hulka roti hüpotaalamuses, hipokampuses ja striatumis ning võrreldud seda stabiilse sotsiaalse käitumisega.

Katseloomaks valiti rott, sest võrreldes hiirega on kergem jälgida roti füsioloogiat, mis sarnaneb rohkem inimese omale (Iannacone ja Jakob, 2009). Lisaks on roti kognitsioon ja mälu paremini arenenud võrreldes teiste närilistega ning seetõttu uuritud ulatuslikumalt. Ka sobib roti nii füüsiline kui proportsionaalne suurus, et uurida nii aju kui muid elundeid (Iannacone ja Jakob, 2009). Kuna rotte kasutatakse uuringutes palju pakub kogutud andmestik häid võimalusi võrdlusteks.

Uurimistöö põhineb osaliselt Tõnissaare jt (2004) töö, kus uuriti sotsiaalse käitumise stabiilsust ning monoamiinide seost püsisotsiaalsusega. Leiti, et algselt ärevuse mõõtmiseks loodud sotsiaalse interaktsiooni testiga on võimalik mõõta ka sotsiaalse käitumise stabiilsust individuaalsel rotil. Kuna tegemist on tähelepanuväärse tulemusega, st leitud stabiilne joon looma käitumises, avanes võimalus uurida, kas sotsiaalsust reguleerival peptiidil on seos leituga ning millistes piirkondades. Seda küsimust uuriti käesolevas töös kolmes ajupiirkonnas: hüpotaalamuses, hipokampuses ning striatumis, kus mõõdeti oksütotsiini ja tema retseptorite suhteline hulk Western bloti meetodil ja arvatati seos püsisotsiaalsusega, kasutades Spearmani korrelatsiooni. Ennustati, mida kauem kestab sotsiaalne interaktsioon, seda suurem on oksütotsiini või oksütotsiini retseptorite tase uuritavas piirkonnas. Käesolevas töös on kasutusel Tõnissaare jt (2004) sotsiaalse interaktsiooni testidega kogutud andmestik.

Autori panus selles töös oli kirjanduslike allikate kogumine; andmete kogumine oksütotsiini ja oksütotsiini retseptori mõõtmiseks Western bloti meetodil; andmeanalüüsi teostamine ning tulemuste tõlgendamine.

### **Töö eesmärk ja hüpoteesid**

Käesoleva töö eesmärk on teada saada, kas oksütotsiini ning tema retseptorite tase kolmes roti peaaegu piirkonnas (hüpotaalamus, hipokampus, striatum) on positiivselt ja statistiliselt oluliselt korreleeritud püsisotsiaalsusega, st kas oksütotsiini või retseptorite tase uuritavates piirkondades on seda kõrgem, mida kauem kestab sotsiaalne interaktsioon.

Hüpotees 1: oksütotsiini ja tema retseptorite tasemed uuritavates piirkondades on positiivselt ja statistiliselt oluliselt korreleeritud keskmise sotsiaalse interaktsiooni testide ajaga

## Meetod

### Sotsiaalse interaktsiooni test

Püsisotsiaalsuse mõõtmine teostati sotsiaalse interaktsiooni testiga (File and Hyde, 1978), nagu esitatud Tõnissaare jt (2004) töös. Katses kasutati 20 Wistari liini täiskasvanud isast rott, kellega viidi kümnepäevase intervalliga läbi neli sotsiaalse interaktsiooni testi, iga kord uue partneriga. Testis mõõdeti aega, mis kulus aktiivsele sotsiaalsele käitumisele, nagu üksteise sugemine, partneri nuuskimine, teise roti alt ja pealt roomamine ning järgnemine. Neli päeva pärast viimast testi rotid dekapiteeriti, eraldati ajud ning ajud dissekteeriti jääl. Ajukoe proovid külmutati ja säilitati – 80°C juures kuni edasiste analüüsideni.

Testi vaatlejate vaheline korrelatsioon oli hea,  $r > 0,90$ . Kõigi testide sotsiaalse interaktsiooni keskmine aeg oli 94 sekundit. Kuigi puudus oluline seos üksiktestide vahel, siis statistiliselt oluline seos oli keskmise sotsiaalse aktiivsuse ja kõikide nelja testi või ühe ning kolme testi keskmise vahel. Selle töö tulemusest võib järeldada, et sotsiaalsus on püsiv joon, mida saab mõõta sotsiaalse interaktsiooni testiga.

### Western blot

Katseks kasutati eelnevalt dissekteeritud ja külmutatud (-80°C) ajukoe proove. Ajukoe proovidele lisati vastavalt kaalule kümnekordne kogus lüüsipuhvrit (RIPA puhver, NaF, PIC, Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>), homogeniseeriti käsitsi uhmrinuiaga ning inkubeeriti 20 minutit jää peal. Lüsaate tsentrifuugiti 12500 pööret minutis 20 minutit +4 °C juures, koguti ülemine vedelikukiht ning lisati Sample buffer. Valkude lahutamiseks kasutati 10% polüakrüülamiidgeeli ja SDS-fooresipuhvrit (25 mM Tris, 192 mM glütsiin, 1% SDS) ning kanti nitrotselluloosmembraanile (Millipore, USA) ülekande puhvril (20% metanooli). Membraan blokeeriti Odyssey Block-lahusega (Li-Cor Biosciences, 927-50000, USA) toatemperatuuril (1h). Pärast pesemist inkubeeriti kolm päeva (4° C) küüliku anti-oksütotsiini (1:1000, Novus Biologicals, NBP1-19753) või oksütotsiini retseptori antikehadega (1:1000, Biorbyt, orb11196). Järgnes pesemine ning inkubeerimine sekundaarsete antikehadega, milleks olid kitse ja küüliku antikehad IR-800 (1:10 000, Li-Cor Biosciences, 926-32211) või IR-680 (1:10 000, Li-Cor Biosciences, 926-68021). Võrdlusvalguna kasutati GAPDH-d, mille mõõtmiseks kasutati hiire anti-GAPDH (1:10 000, MAB374 | Merck Millipore) antikeha (inkubatsioon üleöö toatemperatuuril) ja sekundaarse antikehana kitse IR-680 (1:1000). Valkude visualiseerimine toimus Odyssey

Infrared Imaging System (Odyssey CLx, USA) abil, et määrata valgu tase. Arvutati huvipakkuva valgu suhe GAPDH-i, kasutades pilditötlusprogrammi ImageJ.

## **Tulemused**

### **Andmeanalüüs**

Toorandmed kanti Exceli tabelisse ning andmed analüüsiti SPSS Statistics 23 programmiga. Edasistest analüüsides jäeti välja viie looma tulemused, kuna nende puhul ei olnud võimalik valgu taset usaldusväärselt määrata. Statistiliste analüüsides läbiviimisel kasutati olulisusnivood 0,05. Kuna muutujad ei olnud normaaljaotusega, kasutati andmeanalüüsiks Spearmani mitteparameetrilist korrelatsiooni.

### **Analüüs nelja keskmise sotsiaalse interaktsiooni aja ja oksütotsiini ning oksütotsiini retseptorite tasemete vahel uuritavates piirkondades.**

Nelja keskmise sotsiaalse interaktsiooni aja ja oksütotsiini või tema retseptorite suhtelise hulga seose arvutamiseks kolmes ajupiirkonnas (hüpotaalamus, hipokampus ja striatum) kasutati Spearmani mitteparameetrilist korrelatsiooni. Analüüs näitas, et uuritavate piirkondade ning keskmise sotsiaalse interaktsiooni aja vahel puudus statistiliselt oluline seos. Statistiliselt oluline seos puudus hipokampuse oksütotsiini suhtelise hulga ja sotsiaalse interaktsiooni (SI) vahel ( $r_s = 0,137$ ;  $p = 0,565$ ;  $N = 20$ ), hipokampuse oksütotsiini retseptorite ning SI vahel ( $r_s = 0,037$ ;  $p = 0,884$ ;  $N = 18$ ); hüpotaalamuse oksütotsiini ja SI vahel ( $r_s = 0,02$ ;  $p = 0,995$ ;  $N = 19$ ); hüpotaalamuse retseptorite ja SI vahel ( $r_s = -0,04$ ;  $p = 0,987$ ;  $N = 20$ ); striatumi oksütotsiini ja SI vahel ( $r_s = 0,089$ ;  $p = 0,726$ ;  $N = 18$ ); striatumi oksütotsiini retseptorite ja SI vahel ( $r_s = 0,166$ ;  $p = 0,486$ ;  $N = 20$ ).

Tabel 1. Kolme uuritava piirkonna oksütotsiini ja retseptorite suhtelise hulga seos nelja sotsiaalse interaktsiooni testiga mõõdetud keskmiste aegade, kus N= loomade arv ja M= vahemik.

Tingimus	Oksütotsiini suhteline hulk	Oksütotsiini retseptori suhteline hulk	Nelja sotsiaalse interaktsiooni keskmine aeg (sekundites)	Spearmani korrelatsioonikordaja SI kestvuse ja oksütotsiini hulga vahel	Spearmani korrelatsiooni kordaja SI kestvuse ja oksütotsiini retseptorite vahel
Hüpotaalamus	0,82 (M= 0,43-1,21)	0,64 (M= 0,34-1,15)	95,8 (M= 48,50-144)	$r_s = 0,02$ ; N= 19	$r_s = -0,04$ ; N= 20
Hipokampus	0,75 (M= 0,25-1,30)	0,52 (M=0,10-1,08)	95,8 (M= 48,50-144)	$r_s = 0,14$ ; N= 20	$r_s = 0,04$ ; N= 18
Striatum	0,69 (M= 0,13-1,04)	0,76 (M= 0,30-1,32)	95,8 (M= 48,50-144)	$r_s = 0,09$ ; N= 18	$r_s = 0,17$ ; N= 20

## Arutelu

Töö eesmärgiks oli uurida oksütotsiini ja tema retseptorite tasemete seost püsiva sotsiaalse käitumisega, kuna enne pole teadaolevalt seda seost kontrollitud. Varasemad tööd näitavad, et oksütotsiinil on erinevaid sotsiaalseid käitumisi juhtiv roll, nagu sotsiaalse kontakti algatamine ja säilitamine. (Ferguson, Young, Hearn, Matzuk, Insel, Winslow, 2000; Witt ja Insel, 1992; Bales ja Carter, 2003; Radke jt, 2017; Lukas jt, 2011).

Hüpoteesiks oli, et kolmes uuritavas ajupiirkonnas mõõdetud oksütotsiini või tema retseptorite hulga ning keskmise sotsiaalse interaktsiooni testide aja vahel esineb positiivne ja statistiliselt oluline seos, st ennustati, mida kauem veedavad rotid aega üksteisega sotsiaalses kontaktis, seda kõrgem on oksütotsiini või tema retseptorite tase valitud ajupiirkonnas. See hüpotees ei leidnud kinnitust, st statistiliselt olulist seost ei esinenud ühegi ajupiirkonna oksütotsiini või retseptorite vahel võrreldes SI testide keskmise ajaga.

Tõnissaare jt (2004) aasta töös leiti, et isastel rottidel on olemas stabiilne sotsiaalne loomus. Käesolevas töös testiti oletust, et pidev sotsiaalne käitumine võib olla seotud oksütotsiiniga roti teatud peaaegu osades. Seose puudumine tähendab, et püsisotsiaalsus ei sõltu tsentraalse endogeense oksütotsiini hulgast valitud ajupiirkondades. Samas see ei tähenda ka, et sotsiaalne

käitumine konkreetsel ajahetkel ei oleks seotud aju oksütotsiini tasemetega ning selle kontrollimiseks tuleks mõõta oksütotsiini tase sotsiaalse interaktsiooni ajal.

Varasemalt uuritud on endogeense oksütotsiini funktsiooni roti ajus üsna tagasihoidlikult. Peamiselt on kinnitatud, et roti erinevates ajupiirkondades leidub oksütotsiini ja tema retseptoreid (Landgraf ja Ludwig, 1991; Leng ja Ludwig, 2008; Buijs, Devries ja Van Leeuwun, 1985; Kozlowksi ja Nilaver, 1986; Richar, Moos ja Freund, 1991; Sofroniew, 1983; (Barberis ja Tribollet, 1996; Tribollet jt, 1992). Kuna teada oli, et oksütotsiini retseptoreid leidub hüpotaalamuses, hipokampuses ja striatumis ning nendes ajupiirkondades on oksütotsiinil sotsiaalse käitumisega seotud aspekte, mõõdeti oksütotsiini ning tema retseptorite hulka uuritavates piirkondades. Tulemustest selgus, et oksütotsiini ja tema retseptoreid leidub vaatlusalustes piirkondades, kuid puudub seos püsisotsiaalsusega. Selleks, et edasi uurida endogeense oksütotsiini funktsiooni, saab kasutada uuritava peptiidi määramiseks mitmeid meetodeid. Käesolevas töös kasutati mõõtmisteks Western Bloti meetodit, mille abil saab mõõta konkreetse valgusuhelist hulka kindlas piirkonnas.

Teiseks oksütotsiini hulga määramise võimaluseks on mõõta *in vivo* mikrodialüüsi meetodil oksütotsiini baastase enne sotsiaalset interaktsiooni ning testimise ajal. Mikrodialüüs on tehnika, mida kasutatakse proovide võtuks verest ning koest. Proovideks võivad olla neurotransmitterid, neuropeptiidid, ensüümid, elektrolüüdid, hormoonid ning raviained (Zapata, Chefer, Shippenberg, 2009). Käesolevas töös vaadati, kas endogeense oksütotsiini tasemel kudedes üldse esineb seost püsisotsiaalsusega, kuid edaspidi võiks uurida, kas endogeense oksütotsiini ja selle vabanemise tasemetes on erinevus baastasemes enne SI testi ning SI testimise ajal.

Kolmandaks võimaluseks endogeense oksütotsiini funktsiooni uurimiseks on manustada uuritavasse piirkonda oksütotsiini retseptorite antagonistide, et vaadata, kas vabaneva oksütotsiini toime blokeerimine mõjutab sotsiaalseid tegevusi. Lukas jt (2011) leidsid oma töös rottide ja hiirtega, et süstides aju vatsakeste süsteemi ehk intratserebroventrikaalselt oksütotsiini antagonistit, vähenes võrreldes kontrollgrupiga tunduvalt aeg, mida katseloomad kulutasid teise looma uudistamise peale, kusjuures hiirtel koguni suurenes sotsiaalne vältimine. Oksütotsiini blokeerimisel ajus on leitud soolisi erinevusi sotsiaalses käitumises näiteks isastel, kuid mitte emastel täiskasvanud rottidel, kui isastel vähendab antagonistide süstimine amügdalasse sotsiaalset huvi ehk motivatsiooni uudistada liigikaaslast (Dumais, Alonso, Bredewold ja Veenema, 2016). Seega üheks võimaluseks on oksütotsiini tasemete mõõtmise asemel vaadata, kas oksütotsiini blokeerimine võib tuua kaasa käitumisaktide muutuse sotsiaalses käitumises.

Edasistes töödes võiks välja selgitada, kas endogeense oksütotsiini tase on seotud püsisotsiaalsusega ajupiirkondades, mida käesolev töö ei käsitlenud. Kuigi praeguses uuringus puudus püsisotsiaalsusel seos oksütotsiini tasemetega hüpotaalamuses, hipokampuses ning striatumis, siis septumis ja amügdalas võib see seos esineda (Chappell jt, 2016; Bredewold, Smith, Dumais ja Veenema, 2014; Dumais, Alonso, Bredewold ja Veenema, 2016; Zoicas, Slattery ja Neumann, 2014). Oksütotsiiniil on amügdalas ärevust alandav toime, sh reguleerib tsentraalses amügdalas sotsiaalset äratundmist ning sotsiaalset huvi (Radke jt, 2017; Ferguson jt, 2002; Dumais jt, 2016). Septumis, mida seostatakse sotsiaalse hirmuga (kontakti astumisel), aitab oksütotsiini lisamanustamine sotsiaalse hirmuga hiirtele suurendada sotsiaalset avastamist esimesest kontaktist alates (Zoicas jt, 2014). Seega üheks tuleviku uuringusuunaks võiks olla laiendatud piirkondade valik, kus hinnatakse endogeense oksütotsiini seost sotsiaalse käitumise üksikaspektide ning püsisotsiaalsusega.

Käesolevas töös kasutati täiskasvanud Wistar liini rotte, kelle puhul seost oksütotsiini ja püsisotsiaalsuse vahel ei esinenud. Küll aga on võimalik, et noorrottide endogeense oksütotsiini ja oksütotsiini retseptorite avaldumine nendes ajupiirkondades on stabiilse sotsiaalse käitumisega seotud. Selleks, et paremini aru saada täiskasvanud roti ajust, tuleks vaadata, kuidas avalduvad oksütotsiini retseptorid arengufaasis.

Vaidyanathan ja Hammock (2016) annavad oma töös ülevaate erinevatest näriliste uuringutest, kus on mõõdetud oksütotsiini seondumist retseptorvalgule ning nende seondumissaitide jaotumise muutuse kindlates ajupiirkondades konkreetses vanuses sünnist kuni täiskasvanu eani. Suurim arv oksütotsiini retseptori seondumissaiti leiti hiirtel ja rottidel vanusevahemikus kuus kuni kolmeteist päeva võrreldes ülejäänud perioodiga enne täiskasvanuiga. Seoses retseptorite seondumisega kindlates ajapiirides, toovad Vaidyanathan ja Hammock (2016) välja kolm iseloomulikku suunda: esiteks esineb pidev sidumistase teatud peaaegu piirkonnas esimesest mõõtmisest kuni täiskasvanueani; sidumistase, mis esineb vaid kasvufaasis; lühiaegne sidumisvõime mõningates ajuosades kindlatel ajajärgudel. Lisaks leidsid Tribollet jt (1992), et sünnijärgsel perioodil vanusevahemikus kümme kuni kakskümmend päeva kaovad või vähenevad teatud oksütotsiini sidumissaidid ja nende asemele tekivad uued. Autorid avastasid, et näiteks puudub rottil taalamuse eesmisel tuumas oksütotsiini sidumissaidid sünnijärgsel perioodil, kuid täiskasvanu eas on seal siduvustase suurim. Seega on teada, et oksütotsiin ilmneb erinevates ajupiirkondades eri arenguperioodide ajal kas lühiajaliselt või jäädavalt. Küsimus on, millist funktsiooni need piirkonnad lühiajaliselt kannavad.

Üheks põhjuseks, miks võivad oksütotsiini tasemed erineda eri vanusefaasides, on varasemalt saadud sotsiaalne kogemus vanemhoole osas, mis mõjutab hilisemat sotsiaalset käitumist. Üksikemade poolt kasvatatud järeltulijatel võib hilineda küpsuse saavutamine ning viivituda partneriotsingu periood (Ahern ja Young, 2009). Töö autorid uurisid monogaamsete preeria uruhiirte vanemliku hoole mõjusid täiskasvanu ea sotsiaalsele käitumisele. Ühe pesakonna poegi kasvasid üksinda emasloomad ning teisel pesakonnal olid olemas nii isas- kui emasloom. Üksikemade kasvatatud poegi, keda jäeti rohkem üksinda, lakuti ning soeti vähem, saavutasid küpsuse hiljem ja tuli viivitusega partneri otsingu periood võrreldes kahe vanema poolt hoolitsust saanud poegadega. Selles katses (Ahern ja Young, 2009) avastati ka, et oksütotsiini mRNA kogumikke leidis üksikemade poolt kasvatatud poegadel rohkem paraventrikulaartuumas kui mõlema vanema hoolt saanud järeltulijatel. Ka isastel preeria uruhiirtel on uuritud isahoole puudumise mõju hilisemale sotsiaalsele käitumisele ning oksütotsiini avaldumisele kindlates peaaegu piirkondades (Prounis, Foley, Rehman ja Ophir, 2015). Autorid avastasid, et isata kasvanud isastel uruhiirtel, kes hilisemalt eraldati üksikpuuridesse, oli oksütotsiini tihedus teatud ajupiirkondades (bilateraalses amügdalas, prefrontaalkorteksis, lateraalses septumis) suurem võrreldes isaga kasvanud hiirtel. Ka oli hilisemalt üksiktingimustes elanud uruhiirtel väiksem sotsiaalse diskrimineerimise katse skoor, st nad veetsid vähem aega, et uudistada nii tuttavat kui võõrast liigikaaslast (Prounis, Foley, Rehman, Ophir, 2015). Seega edasistes töodes võiks uurida järgnevaid küsimusi: missuguseid muutusi põhjustab varasemalt kogetud puudulik vanemhool hilisemas eas ja kas sellel on seos endogeense oksütotsiiniga; kas oksütotsiini blokeerimine kindlas arengufaasis takistab sotsiaalse käitumise välja kujunemist täiskasvanu eas.

## **Piirangud**

Käesolev töö põhineb isasloomadega tehtud uuringutele, seega saab tulemusi üldistada vaid isastele. Eelnevad tööd (Uhl-Bronner, Waltisperger, Martínez-Lorenzana, Condes Lara, Freund-Mercier, 2005; Dumais, Bredewold, Mayer ja Veenema, 2013) näitavad, et isastel ning emastel esinevad soolised erinevused seoses oksütotsiini tasemetega. Isastel rottidel on võrreldes emastega ventromediaalses hüpotaalamuse tuumas kõrgem oksütotsiini retseptorite tihedus (Uhl-Bronner jt, 2005). Dumais, Bredewold, Mayer ja Veenema (2013) tööst selgus, et võrreldes isastega oli emastel oksütotsiini retseptori tihedus sidumissaitides üheksas uuritavas ajupiirkonnas madalam, sh striatumi erinevates osades, hüpotaalamuse ventromediaaltuumas

ning hipokampuse CA1 alas. Siiski pole autorite (Dumais jt, 2013) teada leitud soolisi erinevusi oksütotsiini retseptorite tiheduses paraventriculaar- ja supraoptilises tuumas. Seega võib praeguses töös arutleda, kas tulemused erineksid, kui sotsiaalse interaktsiooni testis oleks kasutatud nii isas- ja emasloomi. Kui emastel oleks olnud isastest rottidest madalam oksütotsiini tase teatud piirkondades, nagu näitavad eelmainitud tööd, siis edasised uuringud võiksid keskenduda erinevuste põhjuste välja selgitamisele.

## **Järeldused**

Töö eesmärk oli vaadata, kas esineb seos oksütotsiini ja retseptorite tasemetega uuritavates piirkondades ning püsisotsiaalsuse vahel. Oksütotsiini võib pidada palju lubavaks autismilaadsete sümptomite leevendamise viisiks, kuid puuduvad täpsed teadmised oksütotsiini funktsioonist ajus seoses püsiva sotsiaalse käitumisega. Tegemist oli esimese uuringuga, kus uuriti seost püsisotsiaalsuse ning endogeense oksütotsiini vahel. Katsest selgus, et puudub statistiliselt oluline seos, st püsisotsiaalsus ei sõltu oksütotsiini hulgast tsentraalses süsteemis. Kuigi hüpotees ei saanud kinnitust, näitab uuring vaid seose puudumist isaste täiskasvanud rottide peal. Edasistes töödes võiks uurida soolisi erinevusi ning vaadata lähemalt, kuidas arenevad välja oksütotsiini ja tema retseptorite sidumissaidid sünnijärgsest faasist kuni täiskasvanueani. Endogeenset oksütotsiini ja tema retseptoreid tuleks uurida lisaks septumist ning amügdalast, kuna nendes piirkondades võib oksütotsiin suurendada sotsiaalse kontakti kestvust. Sotsiaalse käitumise aspektidest tuleks välja selgitada varasema sotsiaalse kogemuse, nt vanemhoole mõju hilisemale käitumisele, sh püsisotsiaalsuse väljakujunemisele.

## Kasutatud kirjandus

- Ahern, T. H. & Young, L. J. (2009). The Impact of Early Life Family Structure on Adult Social Attachment, Alloparental Behavior, and the Neuropeptide Systems Regulating Affiliative Behaviors in the Monogamous Prairie Vole (*Microtus ochrogaster*). *Front Behavioral Neuroscience*, 3(17).
- Allik, J. & Rauk, M. (2006). *Psühholoogia gümnaasiumile*. Tartu: Tartu Ülikooli kirjastus.
- Amico, J. A., Challinor, S. M., Cameron, J. L. (1990). Pattern of oxytocin concentrations in the plasma and cerebrospinal fluid of lactating rhesus monkeys (*Macaca mulatta*): evidence for functionally independent oxytocinergic pathways in primates. *J Clin Endocrinol Metabol.*, 71(6), 1531–1535.
- Andari, E., Duhamel, J. R., Zalla, T., Herbrecht, E., Leboyer, M., Sirigu, A. (2010). Promoting social behavior with oxytocin in high-functioning autism spectrum disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(9), 4389–4394.
- Ayers, L. W., Missig, G., Schulkin, J., Rosen, J. (2011). Oxytocin reduces background Anxiety in a Fear-Potentiated Startle Paradigm: Peripheral vs Central Administration. *Neuropsychopharmacology*, 36, 2488-2497.
- Baio, J. (2012). Prevalence of Autism Spectrum Disorders: Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 14 Sites, United States, 2008. *Morbidity and Mortality Weekly Report. Surveillance Summaries*, 61 (3).
- Baio, J. (2014). Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years - autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 63, 1–21.
- Bales, K. L. & Carter, C. S. (2003). Developmental exposure to oxytocin facilitates partner preferences in male prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behavioral Neuroscience*, 117 (4), 854-859.
- Barberis, C. & Tribollet, E. (1996). Vasopressin and oxytocin receptors in the central nervous system. *Crit Rev Neurobiol*, 10, 119–154.
- Baskerville, T. A. & Douglas, A. J. (2010). Dopamine and Oxytocin Interactions Underlying Behaviors: Potential Contributions to Behavioral Disorders. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 16(3), e92-123.
- Blume, A., Bosch, O. J., Miklos, S., Torner, L., Wales, L., Waldherr, M., Neumann, I. D. (2008). Oxytocin reduces anxiety via ERK1/2 activation: local effect within the rat hypothalamic paraventricular nucleus. *European Journal of neuroscience*, 27(8), 1947-1956.
- Boissy, A. (1995). Fear and fearfulness in animals. *Quarterly Review of Biology*, 70, 165-191.
- Bosch, O. J. & Neumann, I. D. (2012). Both oxytocin and vasopressin are mediators of maternal care and aggression in rodents: from central release to sites of action. *Horm. Behav.*, 61, 293–303.
- Buijs, R. M., Devries, G. J., Van Leeuwen, F. W. (1985). The distribution and synaptic release of oxytocin in the central nervous system. in *Oxytocin: Clinical and Laboratory Studies*, eds Amico JA, Robinson AG (Excerpta Med, Amsterdam), 77–86.
- Carson, D. S., Berquist, S. W., Trujillo, T. H., Garner, J. P., Hannah, S. L., Hyde, S. A., Sumiyoshi, R. D., Jackson, L. P., Moss, J. K., Strehlow, M. C., Cheshier, S. H., Partap, P., Hardan, A. Y., Parker, K. J. (2014). Cerebrospinal fluid and plasma oxytocin concentrations are positively correlated and negatively predict anxiety in children. *Molecular Psychiatry*, 20, 1085-1090.
- Chappell, A. R., Freeman, S. M., Lin, Y. K., LaPrairie, J. L., Inoue, K., Young, L. J., Hayes, L. D. (2016). Distribution of oxytocin and vasopressin 1a receptors in the Taiwan vole and their role in social monogamy. *Journal of Zoology*, 299 (2), 106-115.

- Crawley, J. (2014). Optimizing behavioral assays for mouse models of autism. Kasutatud: 22.03.17. <https://spectrumnews.org/opinion/viewpoint/optimizing-behavioral-assays-for-mouse-models-of-autism/>
- Dall, S.R., Houston, A.I. & McNamara, J.M. (2004) The behavioural ecology of personality: consistent individual differences from an adaptive perspective. *Ecology Letters*, 7, 734-739.
- Digman, J. (1990). Personality structure: emergence of the five factor model. *Annual Review of Psychology*, 41, 417-440.
- Dumais, K. M., Alonso, A. G., Bredewold, R., Veenema, A. H. (2016). Role of oxytocin system in amygdala subregions in the regulation of social interest in male and female rats. *Neuroscience*, 330, 138-149.
- Dumais, K. M., Bredewold, R., Mayer, T. E., Veenema, A. H. (2013). Sex differences in oxytocin receptor binding in forebrain regions: correlations with social interest in brain region- and sex-specific ways. *Horm Behav*, 64, 693-701.
- European Commission Health and Consumer Protection Directorate-General (2005). Kasutatud 17.02.17 [http://ec.europa.eu/health/archive/ph\\_information/dissemination/diseases/autism\\_1.pdf](http://ec.europa.eu/health/archive/ph_information/dissemination/diseases/autism_1.pdf)
- Fairless, A. H., Shah, R. Y., Guthrie, A. J., Li, H., Brodtkin, E. S. (2011). Deconstructing Sociability, an Autism-Relevant Phenotype, in mouse models. *Anat Rec (Hoboken)*, 294 (10), 1713-1725.
- Farrell, M. R., Holland, F. H., Shansky, R. M., Brenhouse, H. C. (2016). Sex-specific effects of early life stress on social interaction and prefrontal cortex dendritic morphology in young rats. *Behavioural Brain Research*, 310, 119-125.
- Ferguson, J. N., Young, L. J., Hearn, E. F., Matzuk, M. M., Insel, T. R., Winslow, J. T. (2000). Social amnesia in mice lacking the oxytocin gene. *Nat Genet*, 25, 284-288.
- Ferguson, J. N., Young, L. J., Insel, T.R. (2002). The neuroendocrine basis of social recognition. *Front Neuroendocrinol*, 23, 200–224.
- File, S. E. & Hyde, J. R. (1978). Can social interaction be used to measure anxiety? *British Journal of Pharmacology*, 62(1), 19–24.
- File, S. E. & Seth, P. (2003). A review of 25 years of the social interaction test. *Eur J Pharmacol.*, 463, 35–53.
- Gimpl, G. & Fahrenholz, F. (2001). The oxytocin receptor system: structure, function and regulation. *Physiological Reviews*, 81(2), 629-683.
- Iannaccone, P. M. & Jakob, H. J. (2009). Rats! *Disease models & Mechanisms*, 2(5-6), 206–210.
- Kagerbauer, S. M., Martin, J., Schuster, T., Blobner, M., Kochs, E. F., Landgraf, R. (2013). Plasma oxytocin and vasopressin do not predict neuropeptide concentrations in human cerebrospinal fluid. *J Neuroendocrinol.*, 25(7), 668–73.
- Keebaugh, A. C., Barret, C. E., LaPrarie, J. L. (2015). RNAi knockdown of oxytocin receptor in the nucleus accumbens inhibits social attachment and parental care in monogamous female prairie voles. *Social Neuroscience*, 7, 1-10.
- Kessler, R. C., Chiu, W. C., Demler, O., Walters, E. E. (2005). Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Archives of General Psychiatry*, 62(6), 617–627.
- Koenig, W. & Dickinson, J. (2017). Animal Social Behaviour. Kasutatud: 13.04.17 <https://www.britannica.com/topic/animal-social-behaviour>

- Koosa, K. (2016). Isiksuse uurimine linnuökoloogias. *Hirundo*, 1, 26-46.
- Kozłowski, G. P. & Nilaver, G. (1986). Localization of neurohypophysial hormones in the mammalian brain. *Neuropeptides and Behavior. The Neurohypophysial Hormones*, 23–38.
- Landgraf, R. & Ludwig, M. (1991). Vasopressin release within the supraoptic and paraventricular nuclei of the rat brain: osmotic stimulation via microdialysis. *Brain Res*, 558, 191–196.
- Landgraf, R. & Neumann, I. D. (2004). Vasopressin and oxytocin release within the brain: a dynamic concept of multiple and variable modes of neuropeptide communication. *Front Neuroendocrinol*, 25, 150–176.
- Leng, G., Ludwig, M., Douglas, A. (2011). Neural control of the posterior pituitary gland (neurohypophysis). *Handb Neuroendocrinol*, 139.
- Leng, G. & Ludwig, M. (2008). Neurotransmitters and peptides: whispered secrets and public announcements. *J Physiol.*, 586(pt 23), 5625-5632.
- Lim, M. M. & Young, L. J. (2006). Neuropeptidergic regulation of affiliative behavior and social bonding in animals. *Hormones and Behavior*, 50(4), 506–517.
- Liu, Y. & Wang, Z. X. (2003). Nucleus accumbens oxytocin and dopamine interact to regulate pair bond formation in female prairie voles. *Neuroscience*, 121(3), 537–544.
- Lukas, M., Toth, I., Reber, S. O., Slattery, D. A., Veenema, A. H., Neumann, I. D. (2011). The Neuropeptide oxytocin facilitates pro-social behaviour and prevents social avoidance in rats and mice. *Neuropsychopharmacology*, 36(11), 2159-2168.
- Matsuzaki, M., Matsushita, H., Tomizawa, K., Matsui, H. (2012). Oxytocin: A therapeutic target for mental disorders. *Journal of Physiological Sciences*, 62(6), 441-444.
- Modahl, C., Green, L., Fein, D., Morris, M., Waterhouse, L., Feinstein, C., Levin, H. (1998). Plasma oxytocin levels in autistic children. *Biol. Psychiatry*, 43, 270–277.
- Moghimian, M., Faghihi, M., Karimian, S. M., Imani, A., Houshmand, F., Azizi, Y. (2013). The role of central oxytocin in stress induced cardioprotection in ischemic-reperfused heart model. *Journal of Cardiology*, 61(1), 79-86.
- Olazábal, D. E. & Young, L. J. (2006). Oxytocin receptors in the nucleus accumbens facilitate “spontaneous” maternal behavior in adult female prairie voles. *Neuroscience*, 141(2), 559–568.
- Prounis, G. S., Foley, L., Rehman, A., Ophir, A. G. (2015). Perinatal and juvenile social environments interact to shape cognitive behaviour and neural phenotype in prairie voles. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science*, 282(1819): 20152236.
- Radke, S., Volman, I., Kokal, I., Roelofs, K., de Bruijn, E. R. A., Toni, I. (2017). Oxytocin reduces amygdala responses during threat approach. *Psychoneuroendocrinology*, 79, 160-166.
- Réale, D., Reader, S.M., Sol, D., McDougall, P.T. & Dingemanse, N.J. 2007. Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews* 82:291-318.
- Richard, P., Moos, F., Freund, M. M. (1991). Central effects of oxytocin. *Physiol Rev*, 71, 331–370.
- Ross, H. E., Cole, C. D., Smith, Y., Neumann, I.D., Landgraf, R., Murphy, A. Z., Young, L. J. (2009). Characterization of the oxytocin system regulating affiliative behavior in female prairie voles. *Neuroscience*, 162(4), 892–903.

- Rubin, L. H., Carter, C. S., Drogos, L., Pournajafi-Nazarloo, H., Sweeney, J. A., Maki, P. M. (2010). Peripheral oxytocin is associated with reduced symptom severity in schizophrenia. *Schizophr. Res.*, 124, 13–21.
- Sack, M., Spieler, D., Wiselman, L., Epple, G., Stich, J., Zaba, M., Schmidt, U. (2017). Intranasal oxytocin reduces provoked symptoms in female patients with posttraumatic stress disorder despite exerting sympathomimetic and positive chronotropic effects in a randomized controlled trial. *BMC Medicine*, 15(1).
- Sams-Dodd F. (1995b). Distinct effects of d-amphetamine and phencyclidine on the social behaviour of rats. *Behav. Pharmacol*, 6, 55–65.
- Smith, A. S. & Wang, Z. (2014). Hypothalamic oxytocin mediates social buffering of the stress response. *Biological Psychiatry*, 76(4), 281–288.
- Sofroniew, M. V. (1983). Morphology of vasopressin and oxytocin neurons and their central and vascular projections. *Prog. Brain Res*, 60, 101-114.
- Soloff, M. S., Fernstrom, M. A., Periyasamy, S., Soloff, S., Baldwin, S., Wieder, M. (1983). Regulation of oxytocin receptor concentration in rat uterine explants by estrogen and progesterone. *Canadian Journal of Biochemistry and Cell Biology = Revue Canadienne de Biochimie et Biologie Cellulaire*, 61(7), 625–630.
- Zapata, A., Chefer, V. I., Shippenberg, T. S. (2009). Microdialysis in Rodents. *Curr Protoc Neurosci*, unit 7.2.
- Zoicas, I., Slattery, D. A., Neumann, I. D. (2014). Brain Oxytocin in Social Fear Conditioning and Its Extinction: Involvement of the Lateral Septum. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 39(13), 3027-35.
- Tribollet, E., Dubois-Dauphin, D. M., Dreifuss, J. J., Barberis C., Jard S. (1992). Oxytocin receptors in the central nervous system. Distribution, development, and species differences. *Ann NY Acad Sci*, 652, 29–38.
- Teng, B. L., Nonneman, R. J., Agster, K. L., Nikolova, V. D., Davis, T. T., Riddick, N. V., Baker, L. K., Pedersen, C. A., Jarstfer, M. B., Moy, S. S. (2013). Prosocial effects of oxytocin in two mouse models of autism spectrum disorders. *Neuropharmacology*, 72, 187–196.
- Tõnissaar, M., Philips, M. A., Eller, M., Harro, J. (2004). Sociability trait and serotonin metabolism in the rat social interaction test. *Neuroscience Letters*, 367(3), 309–312.
- Vaidyanathan, R. & Hammock, A. D. (2016). Oxytocin Receptor Dynamics in the Brain Across Development and Species. *Developmental Neurobiology*, 77(2), 143-157.
- Valstad, M., Alvares, G. A., Andreassen, O. A., Westlye, L. T., Quintana, D. S., (2016). The Relationship between central and peripheral oxytocin concentrations: a systematic review and meta-analysis protocol. *Systematic Reviews*, 5:49.
- Vanderschuren, L. J., Niesink, R. J., Van Ree, J. M. (1997). The neurobiology of social play behavior in rats. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 21, 309–326.
- Witt, D. M., Carter, C. S., Walton, D. M. (1990). Central and peripheral effects of oxytocin administration in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Pharmacology Biochemistry Behavior*, 37(1), 63-69.
- Witt, D. M., Winslow, J. T., Insel, T. R. (1992). Enhanced social interactions in rats following chronic, centrally infused oxytocin. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 43, 855–861.

Wotjak, C. T., Ganster, J., Kohl, G., Holsboer, F., Landgraf, R., Engelmann, M.(1998). Dissociated central and peripheral release of vasopressin, but not oxytocin, in response to repeated swim stress: new insights into the secretory capacities of peptidergic neurons. *Neuroscience*, 85(4), 1209–22.

Käesolevaga kinnitan, et olen korrekselt viidanud kõigile oma töös kasutatud teiste autorite poolt loodud kirjalikele töödele, lausetele, mõtetele, ideedele või andmetele.

Olen nõus oma töö avaldamisega Tartu Ülikooli digitaalarhiivis DSpace.

Liisi Grünbaum