دخالت گیرنده های موسکارینی کولینرژیک ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی در اضطراب ناشی از نانوذرات اکسید آهن در موش صحرایی نر بالغ

لطف اله خواجه پور[۱]، اعظم کریمی[۱*]، مهناز کسمتی[۱]، مژگان ترابی[۱]

۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۲۴

چکیده

مقدمه: با توجه به یافته های اخیر در خصوص اثرات زیستی نانوذرات اکسید آهن بر عملکرد سیستم عصبی مرکزی و از آن جایی که سیستم کولینرژیک مغز، در تعدیل رفتارهای اضطرابی درگیر است در مطالعه حاضر نقش گیرنده های موسکارینی کولینرژیک ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی در اضطراب ناشی از نانوذرات اکسید آهن در موش های صحرایی نر بالغ ارزیابی شده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، از موش های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. تمامی حیوانات در ناحیه CA1 با روش جراحی استریوتاکسی کانول گذاری شدند. تزریق داروها یک هفته پس از دوره بهبودی انجام گرفت و ابتدا تزریق درون مغزی و پس از ۵ دقیقه تزریق درون صفاقی انجام شد. رفتار شبه اضطرابی و فعالیت حرکتی حیوان توسط دستگاه ماز به علاوه مرتفع، یک هفته پس از تزریق داروها، انجام گرفت. گروه ها شامل: کنترل(سالین)، نانوذرات اکسید آهن(۵ و ۷/۵ میلی گرم/کیلوگرم، درون صفاقی)، پیلوکارپین(۱ و ۲ میکروگرم/موش، درون هیپوکامپی)، پیلوکارپین(۱ میکروگرم/موش، درون هیپوکامپی)+نانوذره اکسید آهن(۷/۵ میلی‌گرم/گیلوگرم، درون صفاقی) و پیلوکارپین(۲ میکروگرم/موش، درون هیپوکامپی)+نانوذره اکسید آهن(۷/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم، درون صفاقی) می باشند.

یافته های پژوهش: نانوذرات اکسید آهن(۷/۵ میلی گرم/کیلوگرم) سطح اضطراب را نسبت به گروه کنترل افزایش دادند($P<0.05$)، در حالی که تزریق پیلوکارپین(۱ میکروگرم/موش) قبل از نانوذرات اکسید آهن(۷/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) اثر اضطرابی القاء شده توسط نانو اکسید آهن را بهبود بخشید($P<0.05$).

بحث و نتیجه گیری: به نظر می رسد که احتمالاً اثر اضطراب زایی نانوذرات اکسید آهن، از طریق کاهش فعالیت گیرنده های موسکارینی کولینرژیک ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی میانجیگری می شود.

واژه های کلیدی: گیرنده های موسکارینی، هیپوکامپ، اضطراب، نانوذرات اکسید آهن، موش صحرایی

* نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

Email:a_karimi_6813@yahoo.com

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.2.169]

مقدمه

اختلالات اضطرابی یکی از شایع ترین بیماری های روانی می باشند(۱) و طیف وسیعی از اختلالات مانند اختلال ترس، اختلال وسواس فکری، اختلال استرس پس از سانحه و اختلال اضطراب عمومی را شامل می شوند(۱،۲). نواحی مختلفی از سیستم عصبی مرکزی از جمله هیپوکامپ در اختلالات اضطرابی دخالت دارند(۳). هیپوکامپ از اجزای مهم سیستم لیمبیک است که دارای تشکیلات مختلفی از جمله: سابیکولوم، شکنج دندانه ای و نواحی CA1-CA4 می باشد(۴) که ناحیه CA1 هیپوکامپ نقش مهمی در اضطراب دارد(۵).

سیستم کولینرژیک در مغز اثرات خود را از طریق دو نوع گیرنده موسکارینی و نیکوتینی اعمال می کند و این گیرنده ها در بخش های مختلفی از مغز از جمله هیپوکامپ حضور دارند(۶). مطالعات نشان داده است که گیرنده های موسکارینی در کنترل رفتارهای اضطرابی نقش دارند(۷) و با توجه به این که در کدام ناحیه از سیستم عصبی مرکزی قرار گرفته باشند اثرات متفاوتی را بر میزان اضطراب ظاهر می کنند. فعال شدن گیرنده های موسکارینی در ناحیه هیپوکامپ، توسط استیل کولین، باعث کاهش میزان اضطراب در حیوان آزمایشگاهی می گردد(۸).

یون آهن جهت عملکرد طبیعی نورون ها ضروری می باشد(۹). اختلال در میلین سازی که به دنبال کمبود آهن در طی مرحل اولیه تکامل اتفاق می‌افتد اثرات دراز مدتی بر عملکرد رفتاری می گذارد. آهن نقش حیاتی در هومئوستاز سیستم مونوآمینرژیک، گلوتامات و گابا دارد. متابولیسم انرژی نیز متاثر از سطح آهن مغز می باشد. برای مثال کاهش سیتوکروم اکسیداز C که به دنبال فقر آهن در دوران جنینی اتفاق می افتد منجر به تخریب عملکرد متابولیکی در هیپوکامپ می گردد. آهن یک کوفاکتور برای آنزیم های هیدوکسیلاز تریپتوفان و هیدروکسیلاز تیروزین می باشد که این آنزیم ها به ترتیب، مسئول سنتز دوپامین و سروتونین می باشند. فعالیت مونوآمین اکسیداز در موش صحرایی و انسان با کم خونی ناشی از فقر آهن کاهش می یابد. از آن جایی که مونوآمین و گابا در تنظیم خلق و خوی، عملکرد نورونی و اضطراب دخالت دارند، این احتمال وجود دارد که رفتارهای احساسی شدیداً متاثر از سطح آهن در مغز باشند و به نظر می رسد که افزایش سطح آهن منجر به تغییر رفتارهای شبه اضطرابی و خلق و خوی می گردد. در مطالعه ای روی موش های صحرایی بالغی که به صورت روزانه آهن را به شکل درون صفاقی دریافت کرده بودند، افزایش پاسخ های اضطرابی مشاهده گردید. از آن جایی که اثر آهن بر رفتارهای احساسی به صورت وابسته به مقدار است، عدم تعادل در متابولیسم آهن یک نقش اساسی در تعدیل اضطراب و رفتارهای احساسی ایفا می کند(۱۰). اخیراً نانوذرات اکسید آهن به عنوان منبع جدیدی از یون آهن به موجب خواص فیزیکی-شیمیایی و سوپر پارامغناطیسی خود و همین طور کاربردهای بالقوه در زمینه های زیست-پزشکی و صنعت، توجه گسترده ای را به خود جلب کرده اند(۱۱). قرار گرفتن در معرض نانوذرات، به ویژه نانوذرات اکسید آهن به طور مکرر منجر به اختلالات نوروفیزیولوژیک می شود که این امر به دلیل تجمع نانوذرات، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز در مغز موش رخ می دهد(۱۲). بنا بر این استفاده از این نانوذرات به سبب اثرات زیان آور آن بر سیستم های زنده ای که در معرض آن قرار می گیرند یک نگرانی هشدار دهنده می باشد. لذا در این تحقیق، بررسی اثر این نانوذرات بر سطح اضطراب و هم چنین نقش احتمالی گیرنده های موسکارینی در ایجاد اضطراب ناشی از این نانوذره مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه از موش های صحرایی نر بالغ(نژاد ویستار) با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. تمامی حیونات از خانه حیوانات دانشکده دام پزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شده و پس از انتقال به خانه حیوانات دانشکده علوم در دمای ۱±۲۳ درجه سانتی گراد و سیکل روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. تمامی آزمایشات در دوره روشنایی و محدوده ساعت ۱۴-۸ انجام گرفت. حیوانات به صورت تصادفی در ۷ گروه ۶ تایی مطابق با جدول زیر تقسیم شدند(جدول شماره ۱)(۱۳،۱۴).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.2.169]

جدول شماره ۱. عناوین گروه های مورد مطالعه

گروه ها	تزریق درون CA1	تزریق درون صفاقی
۱.کنترل	سالین(۱میکرولیتر/موش)	سالین(۱میلی لیتر/کیلوگرم)
۲. دریافت کننده نانواکسیدآهن	سالین(۱میکرولیتر/موش)	نانواکسیدآهن(۵میلی گرم/کیلوگرم)
۳. دریافت کننده نانواکسیدآهن	سالین(۱میکرولیتر/موش)	نانواکسیدآهن(۷/۵میلی گرم/کیلوگرم)
۴. دریافت کننده پیبوکارپین	پیلوکارپین(۱میکروگرم/موش)	سالین(۱میلی لیتر/کیلوگرم)
۵. دریافت کننده پیلوکارپین	پیلوکارپین(۲میکروگرم/موش)	سالین(۱میلی لیتر/کیلوگرم)
۶. مداخله ۱	پیلوکارپین(۱میکروگرم/موش)	نانواکسیدآهن(۷/۵میلی گرم/کیلوگرم)
۷. مداخله ۲	پیلوکارپین(۲میکروگرم/موش)	نانواکسیدآهن(۷/۵میلی گرم/کیلوگرم)

داروها: نانوذرات اکسید آهن استفاده شده در این تحقیق از نوع α-Fe_2O_3 (با قطری کمتر از ۱۰۰ نانومتر) و ساخت مرکز تحقیقاتی داخلی بود. این نانوذره در سرم فیـــزیولوژی ۰/۹ درصد سوسپانسیون ایجاد می کند. بنا بر این ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک پراکنده شد و سپس پیش از هر تزریق به مدت چند دقیقه توسط شیکر هم زده می شد(۱۵). پیلوکارپین(آگونیست گیرنده موسکارینی)(ساخت شرکت سینا دارو)، در سالین(۰/۹ درصد) حل شده و در حجم نهایی یک میکرولیتر برای هر موش تزریق گردید.

جراحی و کانول گذاری: برای انجـــام جراحی، حیوانات ابتدا بر اساس وزن توسط تزریق درون صفاقی مخلوطی از کتامین(۱۰۰ میـــلی گرم/کیلـــوگرم) و زایلازین(۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) بیهوش شده و سپس جهت کانول گذاری در دستگاه استریوتکس قرار گرفتند. بعد از ثابت کردن سر حیوان در دستگاه، موهای ناحیه سر تراشیده شده و شکاف کوچکی در پوست سر در امتداد خط وسط ایجاد گردید و به دنبال آن بافت های سطحی جمجمه کاملاً برداشته شد تا جایی که استخوان جمجمه کاملاً تمیز و خشک شده و درزهای موجود در بین استخوان های آن به خوبی نمایان گردید و سپس مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی مطابق با اطلس واتسون و پاکسینوس برای هر موش تعیین گردید(۳-میلی متر فاصله قدامی خلفی نسبت به برگما، ۲± فاصله از خط وسط به صورت دوطرفه، ۲/۸ فاصله از سطح جمجمه). نقاط تعیین شده توسط مته سوراخ گردیده و کانـــول ها(به طول ۱۰ میلی متر تهیه شده از سرسوزن پزشکی شماره ۲۲) پس از جایگذاری توسط سیمان دندان پزشکی ثابت شد. پس از یک هفته دوره بهبودی تزریق داروها انجام شد و یک هفته پس از تزریق دارو، آزمایشات رفتاری انجام گرفت. جهت تزریق درون مغزی داروها از سرسوزن دندان پزشکـــی شماره ۲۷ که توسط لوله پلی اتیلن به سرنگ هامیلتون متصل شده بود استفاده شد. برای هر حیوان ۱ میکرولیتر دارو به مدت ۶۰ ثانیه تزریق شد. پس از انجام کلیه آزمایشات جهت تایید صحت مختصات محل جراحی، مقدار ۱ میکرولیتر معرف آبی متیلن به صورت دوطرفه تزریق شد. سپس مغز حیوان از جمجمه خارج و در محلول فرمالین ۱۰ درصد به مدت ده روز قرار داده شد. محـــل های کانول گذاری با تطبیق مقاطع تهیه شده از مغز در اطلس واتسون و پاکسینوس تایید گردید(۱۸-۱۶).

ارزیابی اضطراب(ماز به علاوه مرتفع): در این تحقیق جهت بررسی اضطراب، از دستگاه ماز به علاوه مرتفع به عنوان یک مدل غیر شرطی استفاده شد. این دستگاه دارای دو بازوی باز و دو بازوی بسته با ابعادی مشابه(۱۰×۵۰ سانتی متر) می باشد. این چهار بازو توسط یک بخش مرکزی با ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی متر به هم متصل می شوند. ارتفاع این دستگاه از سطح زمین ۵۰ سانتی متر می باشد. در این آزمون که در مدت زمان ۵ دقیقه به طول می انجامد نخست هر حیوان در ناحیه مرکزی دستگاه(به گونه ای که سر آن رو به روی بازوی باز قرار گیرد) قرار داده می شود. سپس در مدت زمان حضور حیوان در دستگاه چهار پارامتر شامل: مدت زمان حضور حیوان در بازوی باز، مدت زمان حضور حیوان در بازوی بسته، تعداد دفعات ورود حیوان به بازوی باز و تعداد دفعات ورود حیوان به بازوی بسته توسط دوربین ثبت شد. جهت بررسی سطح اضطراب از شاخص های درصد مدت زمان سپری شده در بازوی باز(%OAE)(درصد مدت زمان حضور در بازوی باز بر مجموع مدت زمان حضور در بازوی باز و بسته) و درصد ورود به بازوی باز(%OAT)(درصد تعداد ورود به

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

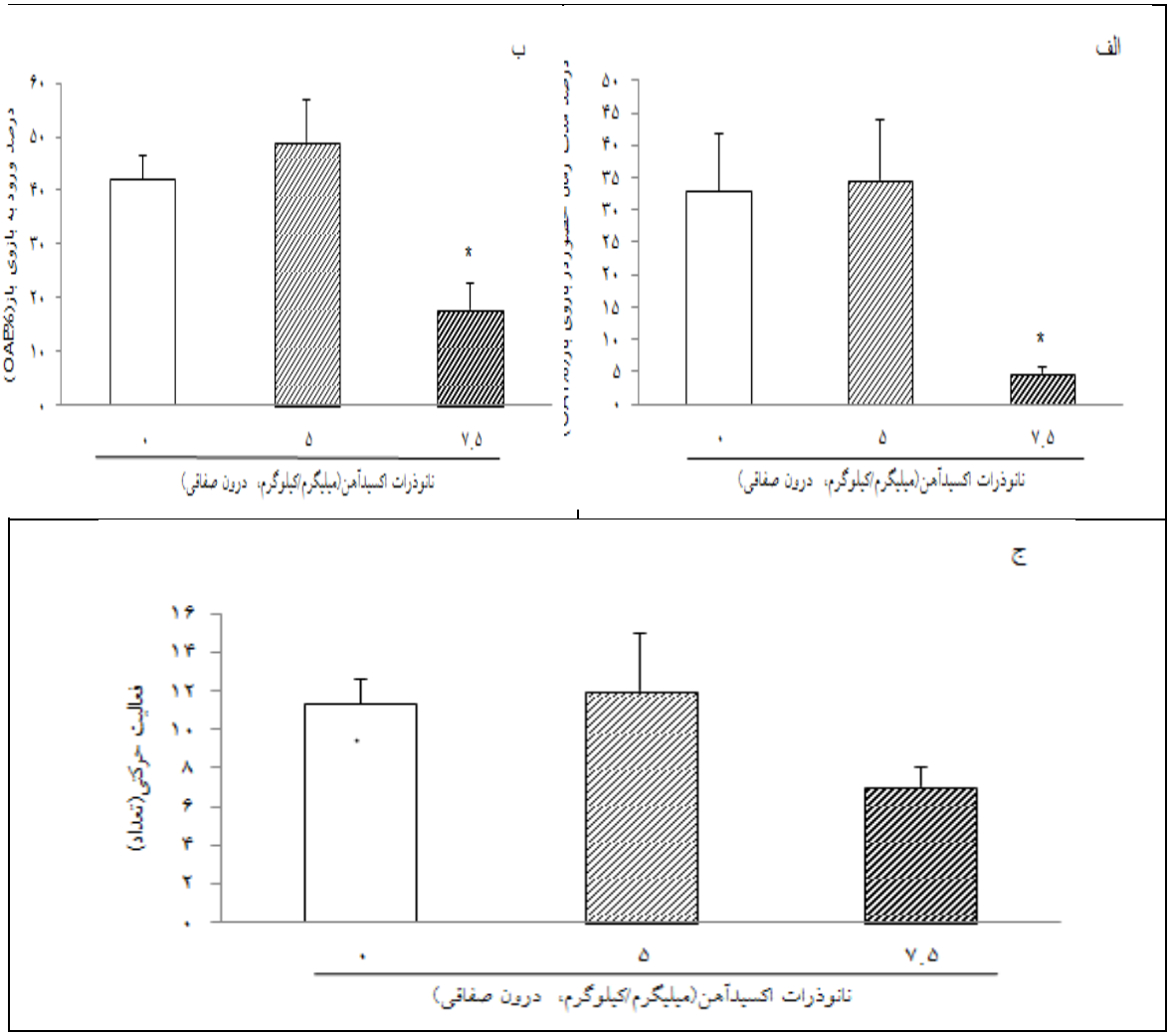
[DOI: 10.29252/sjimu.27.2.169]

بازوی باز بر مجموع تعداد ورود به بازوی باز و بسته) استفاده شد. بهترین معیار جهت سنجش میزان اضطراب حیوان، درصد مدت زمان سپری شده در بازوی باز است. هر چه مدت زمان حضور در این بازو بیشتر باشد، سطح اضطراب حیوان پایین تر است(۱۹،۲۰).

تجزیه و تحلیل آماری داده ها: تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آزمون های آماری، آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تکمیلی توکی، به کمک نرم افزار Instate انجام گرفته است. سطح معنی داری برابر $P<0.05$ در نظر گرفته شد. نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار اکسل(EXCEL) رسم شدند.

یافته های پژوهش

اثر تزریق مقادیر مختلف نانوذرات اکسید آهن بر شاخص های اضطرابی در ماز به علاوه مرتفع: هم چنان که در شکل شماره ۱ مشاهده می شود، نانوذرات اکسید آهن(۵ میلی گرم/کیلوگرم) یک هفته پس از تزریق، اثر معنی داری بر درصد مدت زمان حضور در بازوی باز و همین طور درصد ورود به این بازو نداشت در حالی که همین دارو با دوز ۷/۵ میلی گرم/کیلوگرم، موجب کاهش درصد مدت زمان حضور در بازوی باز و درصد ورود به این بازو شد($P<0.05$*). بنا بر این در این شاخص اضطراب سنجی مقدار ۷/۵ میلی گرم/کیلوگرم منجر به افزایش اضطراب شد.

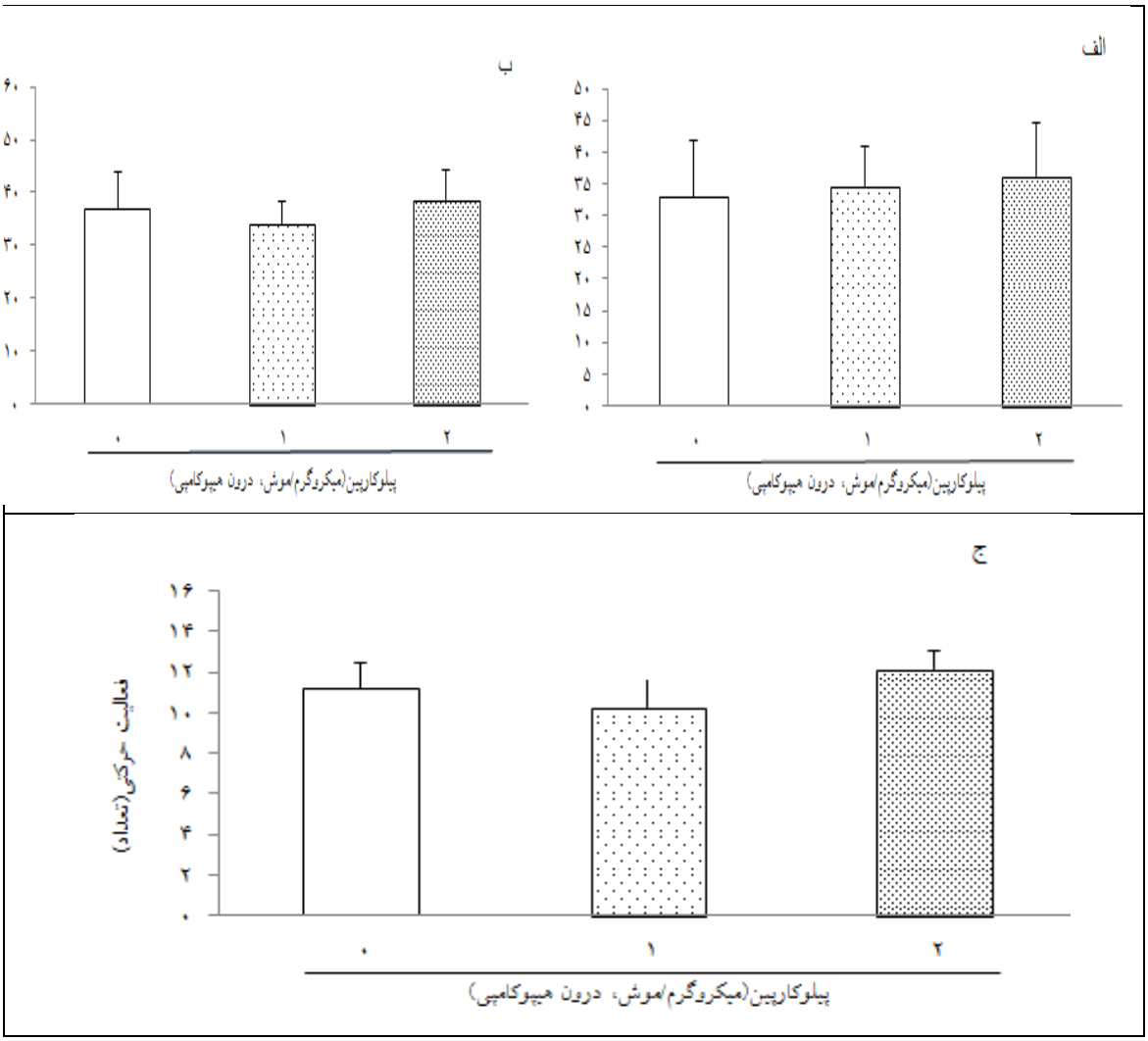


شکل شماره ۱. مقایسه اثر مقادیر مختلف نانوذرات اکسید آهن بر الف) درصد مدت زمان سپری شده در بازوی باز(OAT%)، ب) درصد ورود به بازوی باز(OAE%) و ج) تعداد عبور از خط در تست ماز به علاوه مرتفع. هر ستون نشان دهنده میانگین+انحراف از میانگین می باشد. (P<0.05)* در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.2.169]

اثر تزریق پیلوکارپین بر شاخص های اضطرابی در ماز به علاوه مرتفع: هم چنان که در شکل شماره ۲ مشاهده می شود، میان گروه های دریافت کننده پیلوکارپین(۱ و ۲ میکروگرم/موش) و گروه شاهد یک هفته پس از تزریق، تفاوت معنی داری از نظر درصد مدت زمان حضور در بازوی باز و درصد ورود به این بازو مشاهده نشد. بنا بر این تزریق پیلوکارپین(۱ و ۲ میکروگرم/موش) به تنهایی اثر معنی داری بر شاخص های اضطرابی ندارد.

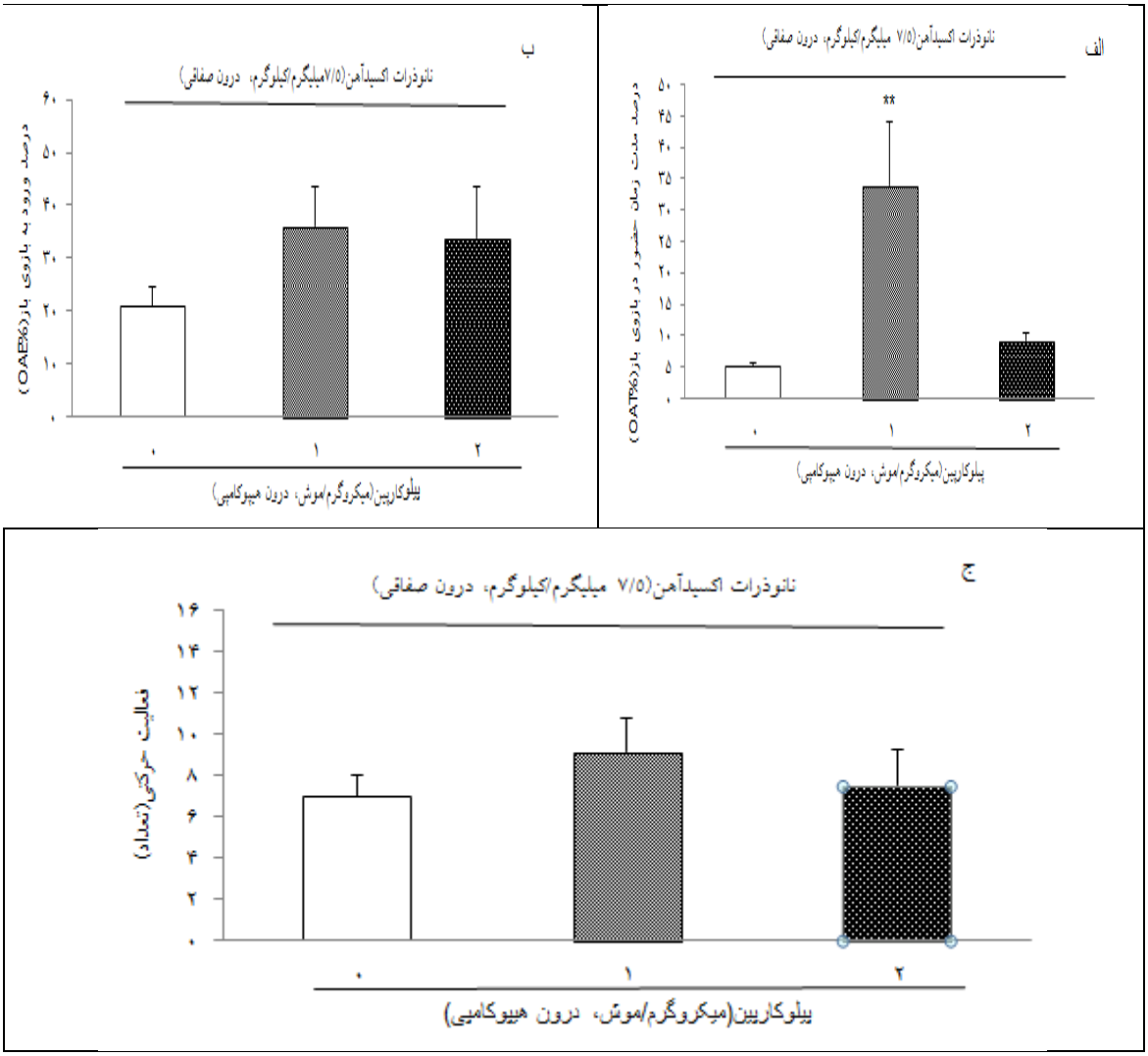


شکل شماره ۲. مقایسه اثر مقادیر مختلف پیلوکارپین بر الف) درصد مدت زمان سپری‌شده در بازوی باز(OAT%)، ب) درصد ورود به بازوی باز(OAE%) و ج) تعداد عبور از خط در تست ماز به علاوه مرتفع. هر ستون نشان دهنده میانگین+انحراف از میانگین می باشد.

اثر تزریق پیلوکارپین بر اضطراب ناشی از نانواکسید آهن در ماز به علاوه مرتفع: هم چنان که در شکل شماره ۳ مشاهده می شود، تزریق پیلوکارپین(۱ میکروگرم/موش) به همراه نانوذرات اکسید آهن(۷/۵ میلی گرم/کیلوگرم)، یک هفته پس از تزریق، درصد مدت زمان حضور در بازوی باز را نسبت به گروهی که نانوذره را به تنهایی دریافت کرده بودند افزایش داد($P<0.01$). بنا بر این در این شاخص اضطراب سنجی مقدار ۱ میکروگرم/موش پیلوکارپین اثر اضطراب زایی ناشی از نانوذرات اکسید آهن(۷/۵ میلی گرم/کیلوگرم) را کاهش داد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.2.169]



شکل شماره ۳. مقایسه اثر مقادیر مختلف پیلوکارپین به همراه نانوذرات اکسید آهن بر الف) درصد مدت زمان سپری شده در بازوی باز(OAT%)، ب) درصد ورود به بازوی باز(OAE%) و ج) تعدا عبور از خط در تست ماز به علاوه مرتفع. هر ستون نشان دهنده میانگین+انحراف از میانگین می باشد.($P<0.01$) در مقایسه با گروه دریافت کننده نانواکسید آهن به تنهایی.**

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر نشان داده شد که تزریق نانوذرات اکسید آهن(۷/۵ میلی گرم/کیلوگرم) پس از یک هفته منجر به افزایش پاسخ های اضطرابی گردید. در مطالعه کسمتی و همکاران نیز نشان داده شده بود که ورود حاد نانوذرات اکسید آهن در مقدار ۱ میلی گرم/کیلوگرم، اثر ضد اضطرابی قابل ملاحظه ای را نشان می دهد(۱۳). کمبود سطح آهن به ویژه در هیپوکامپ، می تواند منجر به افزایش رفتارهای شبه اضطرابی در تست میدان باز و ماز به علاوه مرتفع شود(۲۱). کاهش کارایی و افزایش مرگ نورون ها که به دنبال افزایش سطح آهن در مغز، ایجاد می شود منجر به اختلال در ساخت و رهاسازی انتقال دهنده های عصبی در سیستم های نوروترانسمیتری مختلف از جمله کولینرژیک، آدرنرژیک، سروتونرژیک و دوپامینرژیک می گردد(۲۲). عملکرد غیرنرمال سیستم های سروتونرژیک، دوپامینرژیک، نورآدرنرژیک و گلوتامات ارژیک منجر به اضطراب می گردد(۲۳). مطالعات گذشته نشان داده اند که سیستم دوپامینرژیک، از طریق گیرنده های D_1، عملکرد نورون های کولینرژیک را در هیپوکامپ تنظیم می کند و از آن جایی که نقش هیپوکامپ پشتی و گیرنده های دوپامینی در تعدیل رفتارهای شبه اضطرابی مشخص شده است، اختلال در این سیستم به دنبال تزریق نانوذرات اکسید آهن نیز به طور غیر مستقیم می تواند بر

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.2.169]

عملکرد سیستم کولینرژیک(گیرنده های موسکارینی و نیکوتینی) موثر باشد(۲۴).

در تحقیق حاضر تزریق درون-هیپوکامپی پیلوکارپین(آگونیست گیرنده های موسکارینی کولینرژیک) که به تنهایی اثری بر سطح اضطراب نداشت، موجب کاهش اضطراب القاء شده توسط نانوذرات اکسید آهن در دستگاه ماز به علاوه مرتفع گردید(شکل شماره ۳). هیپوکامپ نقش مهمی در نوروبیولوژی اضطراب ایفا می‌کند و با مراکز هیجانی زیادی در مغز مرتبط است. ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی تحت تاثیر برخی داروهای موثر بر اضطراب قرار می گیرد(۲۵). تغییرات در هیپوکامپ و آمیگدال در تمامی اختلالات اضطرابی، توسط مطالعات متعدد نشان داده شده است(۳،۲۶،۲۷). سیستم های نوروترنسمیتری مختلفی در هیپوکامپ وجود دارند که در تعدیل رفتارهای شبه-اضطرابی دخیل هستند. ورودی های کولینرژیک به هیپوکامپ، در پاسخ به اضطراب، تقویت می شوند(۲۳). مطالعات بر روی گیرنده های موسکارینی کولینرژیک نشان داده است که تزریق سیستمیک اسکوپولامین (آنتاگونیست گیرنده موسکارینی) موجب افزایش میزان اضطراب در موش صحرایی و موش سوری می گردد. به عبارت دیگر عملکرد صحیح گیرنده های موسکارینی برای تنظیم اضطراب ضروری است. لی و همکاران نشان دادند که تحریک و مهار گیرنده های موسکارینی، به ترتیب موجب کاهش و افزایش رفتارهای شبه اضطرابی می گردد(۲۸). گیرنده های موسکارینی(M_1)، اضطراب را از طریق مسیر نورآدرنرژیک تحریک می کنند(۲۳). از آن جایی که پیلوکارپین موجب تقویت عملکرد گیرنده های موسکارینی می شود و به سبب ارتباط گیرنده های موسکارینی کولینرژیک با سیستم های نوروترنسمیتری از جمله سیستم دوپامینرژیک و نورآدرنرژیک در مسیر اضطراب(۲۳،۲۴،۲۹)، این احتمال وجود دارد که تزریق آن به همراه نانوذرات اکسید آهن توانسته است از اثرات اضطراب زایی این نانوذرات نسبت به گروهی که نانوذرات را به تنهایی دریافت کرده اند بکاهد.

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، به نظر می‌رسد که نانوذرات اکسید آهن می توانند از طریق گیرنده های موسکارینی کولینرژیک ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی در شکل گیری اضطراب دخالت داشته باشند. بررسی دقیق تر نقش گیرنده های موسکارینی کولینرژیک بر اثرات اضطراب زایی نانوذرات آهن نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

سپاسگزاری

این تحقیق حاصل کار پژوهشی در مقطع کارشناسی ارشد فیزیولوژی در قالب پایان نامه می باشد، که بر اساس منشور موازین اخلاق در پژوهش، تدوین شده توسط کمیته اخلاق پژوهش، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری به شماره ۲۵۷۵۸۰۳ در سال ۱۳۹۰ انجام شده است و هزینه های آن از محل پژوهانه موضع قرار دارد شماره ۹۴/۳/۰۲/۳۱۵۷۹ تامین شده است. بدین وسیله از مساعدت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می گردد. این پژوهش دارای تاییدیه اخلاقی با کد EE/96.24.3.88369/SCU.AC.IR می باشد.

Refrences

1.Hazim AI, Ramanathan S, Parthasarathy S, Muzaimi M, Mansor SM. Anxiolytic like effects of mitragynine in the open field and elevated plus-maze tests in Rats. J Physiol Sci2014 May 1;64:161-9.doi.org/10.1007/s12576-014-0304-0

2.Anchan D, Clark S, Pollard K, Vasudevan N. GPR30 activation decreases anxiety in the open field test but not in the elevated plus maze test in female Mice. Brain Behavior 2014;4:51-9.. doi.org/10.1002/brb3.197

3.Duval ER, Javanbakht A, Liberzon I. Neural circuits in anxiety and stress disorders: a focused review. Therape Clin Risk Manage2015;11:115.doi: 10.2147/TCRM.S48528

4.Zammit AR, Ezzati A, Zimmerman ME, Lipton RB, Lipton ML, Katz MJ. Roles of hippocampal subfields in verbal and visual episodic memory. Behavir Brain Res2017;317:157-62.doi.org/10.1016/j.bbr.2016.09.038

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.2.169]

5.File SE, Kenny PJ, Cheeta S. The role of the dorsal hippocampal serotonergic and cholinergic systems in the modulation of anxiety. Pharmacol Biochem Behavior2000;66:65-72. doi.org/10.1016/S0091-3057(00)00198-2

6.Yakel JL. Cholinergic receptors functional role of nicotinic ACh receptors in brain circuits and disease. Pflu Arch European J Physiolo 2013;465:441-50. doi.org/10.1007/s00424-012-1200-1

7.File SE, Gonzalez LE, Andrews N. Endogenous acetylcholine in the dorsal hippocampus reduces anxiety through actions on nicotinic and muscarinic$_1$ receptors. Behavior Neurosci1998;112:352. doi.org/10.1037/0735-7044.112.2.352

8.Wall PM, Flinn J, Messier C. Infralimbic muscarinic M1 receptors modulate anxiety like behaviour and spontaneous working memory in mice. Psychopharmacology2001;155:58-68.doi.org/10.1007/s002130000671

9.Thomas M, Jankovic J. Neurodegenerative disease and iron storage in the brain. Curr Opin Neurol 2004;17:437-42. doi: 10.1097/01.wco.0000137534.61244.d1

10. Kim J, Wesslingresnick M. Iron and mechanisms of emotional behavior. J Nut Biochem2014;25:1101-7.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2014.07.003

11. Wu J, Ding T, Sun J. Neurotoxic potential of iron oxide nanoparticles in the rat brain striatum and hippocampus. Neurotoxicology 2013;34:243-53.doi.org/10.1016/j.neuro.2012.09.006

12.Dhakshinamoorthy V, Manickam V, Perumal E. Neurobehavioural toxicity of iron oxide nanoparticles in Mice. Neurotoxicit Res 2017;32:187-203.doi: 10.1007/s12640-017-9721-1

13.Kesmati M, Khorshidi M. [Effect of Fe2O3 Nanoparticles on anxiety behavior and nociception in adult male Rat]. J Kerman Uni Med Sci 2014:21:1-10. (Persian)

14.Bemani-Lirgeshasi S, Khajehpour L, Moazedi AA. [The interaction of cholinergic muscarinic and beta1 Adrenergic receptors of the CA1 region in passive avoidance memory formation in Rat]. J Babol Uni Med Sci 2014;16:22-30. (Persian)

15. Wang B, Feng WY, Wang M, Shi JW, Zhang F, Ouyang H, Zhao YL, Chai ZF, Huang YY, Xie YN, Wang HF. Transport of intranasally instilled fine Fe2O3 particles into the brain: micro-distribution and chemical states and histopathological observation. Biol Trace Ele Res2007 Sep 1; 118:233-43. doi.org/10.1007/s12011-007-0028-6

16. Khajehpour L, Rezayof A, Zarrindast MR. Involvement of dorsal hippocampal nicotinic receptors in the effect of morphine on memory retrieval in passive avoidance task. European J Pharmacol 2008; 584:343-51. doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.02.030

17.Karimi A, Khajehpour L, Kesmati M. Role of the cholinergic muscarinic receptors of the CA1 area in the memory impairment induced by iron oxide nanoparticle in adult male Rats. Nanomed J2019; 2:73-8. doi. 10.22038/NMJ.2019.13225

18. Khajehpour L, Fathinia K, Moazedi AA, Kesmati M. Beta1 adrenoreceptors of the CA1 area mediate morphine modified state dependent memory in Rats. Neurophysiology2013;45:146-52. doi.org/10.1007/s11062-013-9350-0

19. Torabi M, Kesmati M, Harooni HE, Varzi HN. Effect of intra CA1 and intraperitoneal administration of opioid receptor modulating agents on the anxiolytic properties of nano and conventional ZnO in male Rats. Cell 2014; 16:163.

20.Torabi M, Kesmati M, Pourreza N, Varzi HN, Galehdari H. Neurobehavioral and biochemical modulation following administration of MgO and ZnO nanoparticles in the presence and absence of acute stress. Life Sci 2018;203:72-82. doi.org/10.1016/j.lfs.2018.04.023

21.Texel SJ, Camandola S, Ladenheim B, Rothman SM, Mughal MR, Unger EL, et al. Ceruloplasmin deficiency results in an anxiety phenotype involving deficits in hippocampal iron and serotonin and BDNF. J Neurochem2012;120:125-34. doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07554

22.Sh A, Khajehpour L, Kesmati M, Najafzadeh H. [Effect of salvia officinalis hydroalcoholic extract on iron oxide nanoparticle induced memory impairment in the presence and absence of beta

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.2.169]

adrenergic receptors in adult male Mice]. J Ardabil Uni Med Sci2016; 15:348-59. (Persian)
23.Kaur S, Singh R. Role of different neurotransmitters in anxiety. Int J Pharmaceut Sci Res 2017;8:411-6. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.8(2).411-21
24.Piri MO, Nasehi M, Mafi F, Shahin M, Zarrindast MR. [Interaction between nicotine and dopaminergic D1 receptor of dorsal hippocampus in the hole board test of anxiety]. J Qazvin Uni Med Sci2012;16:44-51.(Persian)
25.Beirami E, Oryan S, Valizadegan F, Zarrindast M. [Performance evaluation of interference morphine and β-adrenergic system of dorasal hippocampus on anxiety related behaviour in male wistar Rat. J Mazandaran Uni Med Sci2012;22:50-9. (Persian)
26. Irle E, Ruhleder M, Lange C, Seidler-Brandler U, Salzer S, Dechent P, Weniger G, Leibing E, Leichsenring F. Reduced amygdalar and hippocampal size in adults with generalized social phobia. J psychiatr Neurosci 2010;35:126.doi: 10.1503/jpn.090041
27.Baghishani F, Sahab NS. [The role of neurogenesis in anxiety disorders]. J Shefaye khatam2017;:98-109. (Persian)
28.Li H, Chen L, Li P, Wang X, Zhai H. Insular muscarinic signaling regulates anxiety-like behaviors in rats on the elevated plus maze. Behavir Brain Res 2014;270:256-60. doi.org/10.1016/j.bbr.2014.05.017
29.Demello N, Junior IQ, Carobrez AP. Pilocarpine prevents age-related spatial learning impairments in rats. Behavior Brain Res2005; 30;158:263-8. doi.org/10.1016/j.bbr.2004.09.006

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.2.169]

Involvement of Dorsal Hippocampal Muscarinic Cholinergic Receptors of CA1 Area on Anxiety Induced by Iron Oxide Nanoparticles in Adult Male Rats

Khajehpour L[1], Karimi A[1], Kesmati M[1], Torabi M[1]*

(Received: June 20, 2018 Accepted: December 15, 2018)

Abstract

Introduction: Recent findings revealed the biological effects of iron oxide nanoparticles on the central nervous system. Moreover, the brain cholinergic system plays a role in the modulation of anxiety behaviors. Therefore, this study aimed to evaluate the role of dorsal hippocampal muscarinic cholinergic receptors of the CA1 area on anxiety induced by iron oxide nanoparticles in adult male rats.

Materials & Methods: This experimental study was conducted on adult male Wistar rats with a weight range of 200-250 g. All animals were cannulated in the CA1 area using stereotactic surgery. One week after the recovery the intracerebroventricular injection followed by intraperitoneal (IP) injection after 5 min were administered. Anxiety-like behavior and locomotor activity were performed by elevated plus maze apparatus one week after the injections. The groups were divided into control (saline), iron oxide nanoparticle (5, 7.5 mg/kg,IP), pilocarpine (1,2 µg/rat, intra-hippocampal injection), pilocarpine (1µg/rat, intra-hippocampal injection)+iron oxide nanoparticle (7.5mg/kg, IP) ,and pilocarpine (2µg/rat, intra-hippocampal injection)+iron oxide nanoparticle (7.5mg/kg, IP). *Ethics code:* EE/96.24.3.88369/SCU.AC.IR

Findings: Iron oxide nanoparticles (7.5 mg/kg) increased the anxiety level, compared to the control group ($P<0.05$). However, pilocarpine injection (1µg/rat) before iron oxide nanoparticles (7.5 mg/kg) improved the anxiety induced by iron oxide nanoparticle ($P<0.05$).

Discussion &Conclusions: It seems that probably the anxiogenic effect of iron oxide nanoparticles is mediated through the reduction of dorsal hippocampal muscarinic cholinergic receptor functions in CA1area.

Keywords: Anxiety, Hippocampus, Iron oxide nanoparticle, Muscarinic receptors, Rat

1. Dept of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
**Corresponding author Email:a_karimi_6813@yahoo.com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.2.169]