

اثر نانوذرات Fe_2O_3 بر رفتار اضطرابی و احساس درد در موش صحرایی نر بالغ

مهناز کسمتی^{۱*}، مرضیه خورشیدی^۲

خلاصه

مقدمه: آهن عنصری ضروری برای عملکرد صحیح مغز است. کمبود آهن رفتارهایی مانند درک درد و اضطراب را تغییر می‌دهد. به تازگی، نانوذرات آهن به صورت اکسید آهن (Fe_3O_4 و Fe_2O_3) به طور گسترده‌ای در بخش‌های مختلف صنعتی، کشاورزی و پزشکی به کار می‌رود اما اثرات این مواد بر سلامتی و رفتار روشن نشده است. در این پژوهش، اثر نانوذرات اکسید آهن (Fe_2O_3) بر مدل حیوانی اضطراب و درک درد ارزیابی شد.

روش: در این مطالعه، از موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم در ۱۲ گروه استفاده شد؛ ۳ گروه شاهد دریافت کننده سالین و ۹ گروه که مقادیر ۰/۲، ۱ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات اکسید آهن را به صورت درون صفاقی دریافت کردند. از دستگاه‌های ماز به علاوه مرتفع و صفحه داغ (Hot-plate) و پس کشیدن دم (Tail-flick) به ترتیب جهت ارزیابی اضطراب و احساس درد استفاده شد. داده‌ها با آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون LSD (Least significant difference) با سطح معنی‌داری $P < 0/05$ مقایسه شدند.

یافته‌ها: نانوذرات اکسید آهن با افزایش مقدار، درصد زمان سپری شده در بازوی باز ($P < 0/05$) را افزایش داد و فقط در مقدار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش فعالیت حرکتی شد. در مقدار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، زمان پاسخ به درد حاد در دو تست صفحه داغ ($P < 0/01$) و پس کشیدن دم افزایش یافت ($P < 0/001$).

نتیجه‌گیری: تجویز حاد نانوذرات اکسید آهن رفتارهای اضطرابی را در مدل ماز به علاوه مرتفع کاهش داده، آستانه درد حاد را در تست‌های صفحه داغ و پس کشیدن دم در موش صحرایی افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: اضطراب، درد، نانوذرات اکسید آهن، موش صحرایی

۱- دانشیار فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز

* نویسنده مسؤول، آدرس: پست الکترونیک: m.kesmati@scu.ac.ir

پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۵/۹

دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۲/۴/۱۲

دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۸/۱۵

مقدمه

نانومواد فلزی دارای کاربردهای فراوان در علوم زیستی و پزشکی می‌باشند. این مواد از ترکیب مواد شیمیایی گوناگون با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر ساخته می‌شوند (۱). نانوذرات اکسید آهن به دلیل ویژگی‌های مغناطیسی، سازش پذیری زیستی و توانایی کاتالیتیکی بالا، به طور گسترده در زمینه‌های صنعتی، کشاورزی و پزشکی نظیر عکس برداری پزشکی، زیست درمانی و فتوکاتالیز به کار می‌رود (۴-۱). کاربرد گسترده این ذرات در زمینه‌های مختلف، آلودگی زیست محیطی ایجاد می‌نماید و به دلیل نفوذ پذیری بالا، به مقدار زیادی وارد بدن نیز می‌شود؛ احتمال می‌رود، عوارض ناخواسته‌ای توسط این مواد ایجاد شود که متأسفانه تا کنون به طور مکفی بدان پرداخته نشده است.

روشن است که آهن یک فلز ضروری برای موجودات زنده می‌باشد که نقش مهمی در شماری از عملکردهای بیولوژیک بازی می‌کند (۵). این ماده برای رشد، تکامل و عملکرد طبیعی دستگاه عصبی مرکزی حیاتی است (۶، ۷). آهن در سیستم نوروترانسمیتری و متابولیسم سلول‌های عصبی نقش‌های متنوعی دارد که می‌توان به قرارگیری در آنزیم‌های اکسید و ردوکتاز، دسته‌بندی، بازجذب و انتقال نوروترانسمیترها (۸)، تشکیل میلین و متابولیسم انرژی مغز اشاره کرد (۹-۷). همچنین، برای سنتز چندین نوروترانسمیتر مغزی نظیر سروتونین، دوپامین، نوراپی‌نفرین و ۷-آمینوبوتیریک اسید نیز آهن مورد نیاز است (۹). همه این سیستم‌ها در شکل‌گیری رفتار و پاسخ‌های فیزیولوژیک نقش دارند.

برخی رفتارهای فیزیولوژیک به طور غیر مستقیم متأثر از میزان آهن بدن است. در این میان، رفتارهای مرتبط با اضطراب و احساس درد، در برخی مطالعات، به‌ویژه در موارد کمبود آهن در انسان و حیوانات آزمایشگاهی و گه‌گاه، مصرف مکمل‌های آهن گزارش شده است. برای

مثال نشان داده شده است که مکمل آهن باعث بهبود ۲۵ درصدی استرس و افسردگی در مادران دارای کمبود آهن می‌گردد (۵). اثر غیر مستقیم آهن بر رفتارهای اضطرابی و درد با واسطه سیستم دوپامینرژیک مطالعه شده است؛ چرا که بیشترین غلظت آهن در نواحی مغزی شامل ساختارهای دوپامینرژیک می‌باشد. در این مطالعات مشخص شده است که کمبود آهن غذایی القا شده در موش باعث کاهش گیرنده‌های D₂ دوپامینرژیک می‌شود (۱۱، ۱۰). به علاوه، روشن شده است که رفتارهای شبه اضطرابی با تراکم ناقلین و گیرنده‌های D₂ دوپامینی در کورتکس جلو پیشانی مرتبط است (۱۱، ۷)؛ این یافته نشان می‌دهد که آهن در سنتز و باند شدن گیرنده D₂ دوپامین نقش مسلم دارد. کمبود آهن حوادث پس‌سیناپسی را در سطوح گیرنده در جایگاه‌های مختلف مغزی تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۰) که منجر به تنظیم کاهشی فعالیت سیستم دوپامینرژیک می‌گردد؛ کاهش فعالیت دوپامینرژیک به دلیل کمبود آهن منجر به تغییرات رفتاری و میزان پاسخ به درد نیز می‌شود (۱۱). به عبارت دیگر، پاسخ به درد و رفتارهای اضطرابی می‌تواند تحت تأثیر میزان آهن مغز قرار گیرد.

با توجه به افزایش استفاده از مواد نانو، به خصوص نانو اکسید آهن، در تولیدات صنعتی و پزشکی و در نظر داشتن آن‌ها به عنوان امیدی در جهت بهبود تشخیص و درمان انواع بیماری‌های انسانی، ضروری است که اثر این محصولات با ویژگی‌های جدید و منحصر به فرد بر بافت‌های پایه و اساسی (از جمله مغز) بررسی شود و چگونگی واکنش آن‌ها در سیستم‌های بیولوژیک مورد ارزیابی قرار گیرد. از آن جایی که همواره نقش عنصر آهن در رفتارهایی مانند درد و اضطراب، که ارتباط فیزیولوژیک نزدیکی با هم دارند، بیشتر در شرایط کمبود آن مورد مطالعه واقع شده و مطالعات چندانی در خصوص تأثیر عنصر آهن در مقیاس‌های نانو بر این گونه رفتارها انجام نشده است، این تحقیق با هدف بررسی اثر نانو اکسید

۱۰ × ۵۰ سانتی متر است که این چهار بازو به یک کفه مرکزی به ابعاد ۱۰ × ۱۰ سانتی متر منتهی می شود و ارتفاع آن از سطح زمین ۵۰ سانتی متر است.

این مدل آزمون اضطراب با توجه به غیر شرطی بودن نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد. موش ها در آغاز آزمایش در محدوده مرکزی دستگاه روبه روی بازوی باز قرار می گرفتند. وقتی حیوان وارد بازوی باز شود، با دیدن ارتفاع ترسیده، به سمت بازوی بسته می رود. بهترین معیار برای اندازه گیری اضطراب، مدت حضور در بازوی باز است. هرچه مدت حضور در این بازو بیشتر باشد، نشان دهنده کاهش اضطراب است. ورود هر دو اندام حرکتی عقبی حیوان، معیار ورود و خروج به بخش های مختلف دستگاه در نظر گرفته می شد و از هر حیوان فقط یک بار در آزمایش استفاده شد تا هیچ گونه یادگیری صورت نگیرد.

پس از اتمام هر تست، تمام قسمت های دستگاه که با موش در تماس بود، به وسیله پنبه و الکل ۷۰ درصد تمیز و سپس خشک گردید. در این دستگاه، جمع تعداد ورود به بازوی باز و بسته بدون توجه به اضطراب یک نشانه قابل اطمینان از فعالیت حرکتی می باشد. طی مدت ۵ دقیقه، زمان سپری شده در بازوی باز و بسته و تعداد دفعات ورود به هر دو بازو به صورت جداگانه ثبت می شد و درصد زمان سپری شده در بازوی باز (Open arm time percent) یا (OAT%)، درصد ورود به بازوی باز (Open arm entries percent) یا (OAE%) و میزان فعالیت حرکتی (Locomotor activity) به عنوان شاخص های اضطراب به شکل زیر محاسبه می شد (۱۲، ۱۳):

زمان سپری شده در بازوی باز = زمان ماندن در بازوی باز تقسیم بر زمان ماندن در بازوهای باز و بسته $\times 100$
 ورود به بازوی باز = تعداد ورود به بازوی باز تقسیم بر تعداد ورود به بازوهای باز و بسته $\times 100$
 فعالیت حرکتی = تعداد ورود به بازوی باز + تعداد ورود به بازوی بسته

آهن بر مدل رفتار اضطرابی و درد حاد در موش صحرایی انجام گرفت.

روش بررسی

حیوانات آزمایشگاهی

جهت انجام این پژوهش، ۹۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از دانشکده پزشکی دانشگاه جندی شاپور اهواز تهیه شد. موش ها پس از انتقال به خانه ی حیوانات در قفس توزیع شدند و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. دمای نگهداری حیوانات 2 ± 24 درجه سانتی گراد بود. غذای حیوانات از کارخانه دام و طیور چاودانه اصفهان تهیه شد. آزمایش ها در دوره روشنایی و در محدوده ساعت ۹ تا ۱۴ انجام می گرفت.

در این تحقیق برای بررسی اضطراب و درد مجموعاً از سه دستگاه استفاده شد که در زیر به طور کامل معرفی شده اند. برای هر دستگاه به طور مجزا حیوانات به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. یک گروه شاهد که دریافت کننده سرم فیزیولوژی و سه گروه از حیوانات مقادیر ۰/۲، ۱ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم نانوذرات اکسید آهن (Fe_2O_3) را به شکل یک بار تزریق (حاد) ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش، دریافت نمودند. لازم به ذکر است که حامل نانو اکسید آهن در هر مقدار تجویزی سالیین (۱۰ میلی لیتر) بود و تزریق به صورت درون صفاقی و متناسب با وزن موش ها صورت گرفت.

مطالعات رفتاری

ارزیابی اضطراب: تست ماز به علاوه مرتفع

تست ماز به علاوه مرتفع (Elevated plus-maze) یک مدل غیر شرطی برای تولید و سنجش اضطراب و تعیین اثرات اضطراب زایی و ضد اضطرابی داروهاست. این ابزار از جنس چوب، دارای دو بازوی باز و دو بازوی بسته به ابعاد

ارزیابی درد

برای ارزیابی درد حرارتی از دو تست صفحه داغ (Hot-plate) و پس کشیدن دم (Tail-flick) استفاده گردید.

تست صفحه داغ

در آزمون صفحه داغ دمای دستگاه در $50 \pm 1^\circ \text{C}$ تنظیم و زمان پاسخ به درد حرارتی به صورت بلند کردن پا ثبت می گردید. زمان خاتمه آزمون (Cut-off time) ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد. به منظور دقت در انجام کار و کاهش خطا، این آزمون دو بار متوالی با فواصل ده دقیقه بر روی هر حیوان انجام گردید و میانگین جوابها به عنوان زمان تأخیر در نظر گرفته شد (۱۷). نتایج آماری به شکل زمان تأخیر در عکس العمل به درد (Pain latency) و بر حسب ثانیه بیان شد.

تست پس کشیدن دم

این آزمون بر اساس روش Smith و D'Amour انجام شد (۱۴). در این آزمون، از تابش نور بر ثلث میانی دم حیوان به عنوان محرک درزا استفاده گردید و به منظور جلوگیری از آسیب بافتی، زمان ۶۰ ثانیه به عنوان زمان قطع تابش نور در نظر گرفته شد. مدت زمانی که طول می کشید تا حیوان دم خود را عقب بکشد، به عنوان زمان تأخیر (Tail-flick latency) در نظر گرفته شد. به منظور دقت انجام کار و کاهش خطا، این آزمون سه بار متوالی با فواصل دو دقیقه روی هر حیوان انجام گردید و میانگین جوابها به عنوان زمان تأخیر در نظر گرفته شد.

تهیه سوسپانسیون نانوذرات اکسید آهن

در این تحقیق از نانوذرات اکسید آهن (پودر سرخ قهوه‌ای) با سایز متوسط ۲۵ نانومتر (Merck، آلمان) استفاده شد. نانوذرات اکسید آهن در سرم فیزیولوژی ایجاد سوسپانسیون می کند؛ بنابراین، ابتدا توسط همزن برای چند

دقیقه به هم زده می شد، سپس توسط یک حمام نوسان ساز اولتراسونیک برای ۱۵ دقیقه پراکنده می گردید (۱۵) تا محلول هم گنی فراهم آید؛ سپس تزریق انجام می شد.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به منظور بررسی داده‌های حاصل از این پژوهش، از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ (SPSS Inc., version 16, Chicago, IL) استفاده شد. داده‌ها براساس آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون Post hoc نوع Least significant difference (LSD) و سطح معنی داری $P < 0.05$ بررسی گردید. نمودارها با نرم افزار Excel رسم گردید.

نتایج

اثر ضد اضطرابی مقادیر مختلف نانوذرات اکسید آهن

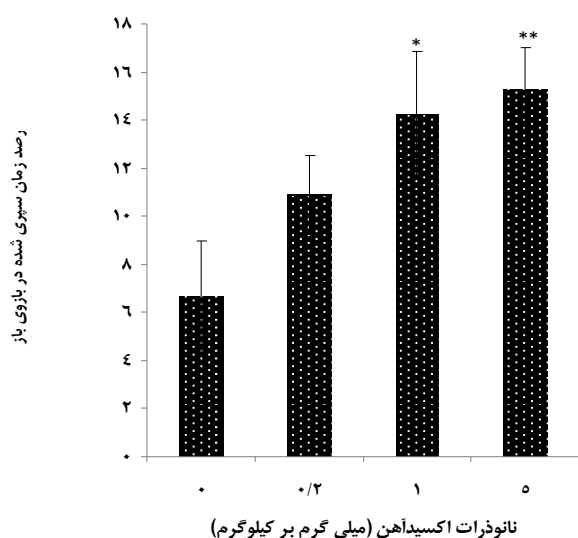
درصد زمان حضور در بازوی باز

همچنان که در شکل ۱ مشاهده می شود، نانوذرات اکسید آهن نسبت به گروه شاهد با افزایش مقدار، باعث افزایش مدت زمان سپری شده در بازوهای باز گردید. در مقدار ۰/۲ میلی گرم بر کیلوگرم، اثر قابل ملاحظه‌ای نشان نداد؛ در حالی که در مقدار ۱ (P < 0.05) و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم (P < 0.01) باعث افزایش زمان حضور در بازوهای باز گردید. بدین ترتیب، در این شاخص اضطراب‌سنجی، مقادیر ۱ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم نانواکسید آهن اثر ضد اضطرابی نشان داد.

تعداد دفعات ورود به بازوی باز

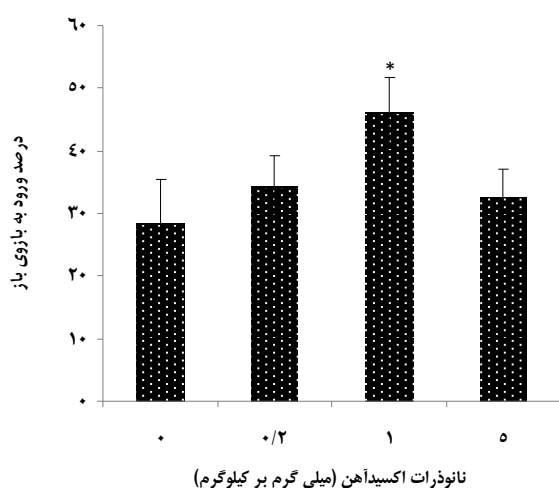
مقدار مصرفی ۱ میلی گرم بر کیلوگرم نانواکسید آهن باعث افزایش معنی داری (P < 0.05) در درصد دفعات ورود به بازوی باز در تست ماز به علاوه مرتفع گردید. در حالی که، مقادیر ۵ و ۰/۲ میلی گرم بر کیلوگرم اثر معنی داری بر پارامتر فوق نداشت (شکل ۲). بدین ترتیب،

معنی داری نشان نداد. بدین ترتیب، نانو اکسید آهن به میزان ۵ میلی گرم بر کیلو گرم اثر ضد دردی را در دو تست درد حاد نشان داد.



شکل ۱. مقایسه اثر مقادیر مختلف نانو ذرات اکسید آهن بر درصد

زمان سپری شده در بازوی باز (OAT%) در تست ماز به علاوه مرتفع هر ستون نشان دهنده میانگین \pm انحراف معیار می باشد. تعداد حیوان در هر گروه ۷ سر می باشد. مقادیر ۱ و ۵ میلی گرم نانو اکسید آهن به ترتیب با $P < 0.05$ (*) و $P < 0.01$ (**) نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی دار دارند.



شکل ۲. مقایسه اثر مقادیر مختلف نانو ذرات اکسید آهن بر درصد

تعداد ورود به بازوی باز (OAE%) در تست ماز به علاوه مرتفع هر ستون نشان دهنده میانگین \pm انحراف معیار می باشد. تعداد حیوان در هر گروه ۷ سر می باشد. مقدار ۱ میلی گرم نانو اکسید آهن نسبت به گروه شاهد با $P < 0.05$ (*) اختلاف معنی دار دارد.

در این شاخص فقط مقدار ۱ میلی گرم بر کیلوگرم نانو اکسید آهن اثر ضد اضطرابی نشان داد.

میزان فعالیت حرکتی

شکل ۳ میزان فعالیت حرکتی را در گروه‌های دریافت کننده نانو اکسید آهن در مقایسه با گروه شاهد نشان می دهد. آنالیز آماری حاکی از آن بود که گروه‌های دریافت کننده ۰/۲ و ۱ میلی گرم بر کیلوگرم نانو اکسید آهن تغییری در فعالیت حرکتی نشان ندادند؛ در حالی که گروه که دریافت کننده ۵ میلی گرم بر کیلوگرم نانو اکسید آهن دچار افزایش معنی دار فعالیت حرکتی نسبت به گروه شاهد ($P < 0.01$) شد. بدین ترتیب، نانو ذرات اکسید آهن با افزایش مقدار باعث افزایش حرکت و جابه جایی حیوان نیز شد.

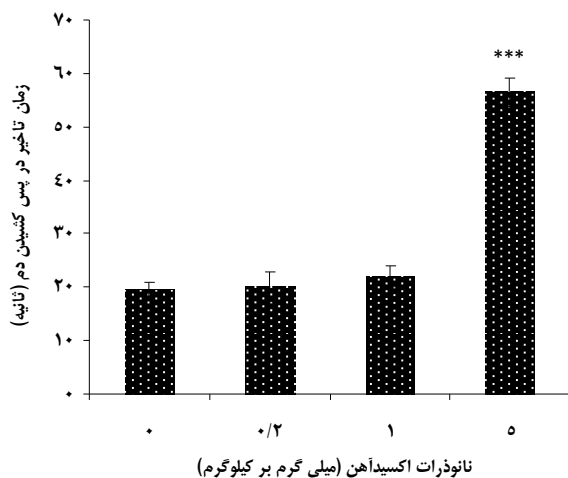
اثر ضد دردی مقادیر مختلف نانو ذرات اکسید آهن

تست صفحه داغ (تأخیر در لیسیدن کف پا)

شکل ۴ تأثیر مقادیر مختلف نانو ذرات اکسید آهن را در تست صفحه داغ نشان می دهد. آزمون‌های آماری نشان داد که نانو ذرات اکسید آهن با افزایش مقدار باعث افزایش زمان تأخیر پاسخ به محرک دردناک می شود؛ از بین مقادیر مختلف نانو ذرات، تنها مقدار ۵ میلی گرم بر کیلوگرم توانست به صورت معنی داری ($P < 0.01$) باعث افزایش زمان تحمل درد نسبت به گروه شاهد و دو مقدار ۰/۲ و ۱ میلی گرم بر کیلوگرم ($P < 0.05$) شود.

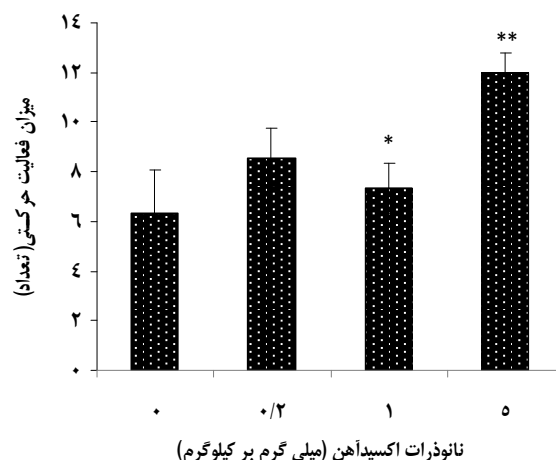
تست پس کشیدن دم

شکل ۵ مقایسه زمان تأخیر در تست پس کشیدن دم، در گروه‌های دریافت کننده نانو اکسید آهن و سالین را نشان می دهد. نانو ذرات اکسید آهن در مقدار ۵ میلی گرم بر کیلوگرم موجب افزایش معنی داری ($P < 0.01$) در زمان پس کشیدن دم در مقایسه با گروه شاهد و سایر مقادیر ($P < 0.01$) برای هر دو گردید و در دو مقدار دیگر اثر



شکل ۵. مقایسه اثر مقادیر مختلف نانوذرات اکسید آهن بر تأخیر پاسخ در تست پس کشیدن دم

هر ستون نشان دهنده میانگین \pm انحراف معیار می باشد. تعداد حیوان در هر گروه ۷ سر می باشد. مقدار ۵ میلی گرم نانو اکسید آهن نسبت به گروه شاهد و مقادیر ۰/۲ و ۱ میلی گرم با $P < 0.01$ (***) اختلاف معنی دار دارد.



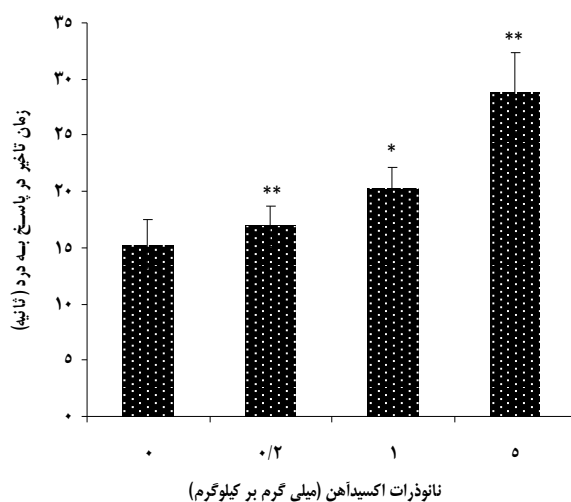
شکل ۳. مقایسه اثر مقادیر مختلف نانوذرات اکسید آهن بر میزان فعالیت حرکتی در تست ماز به علاوه مرتفع

هر ستون نشان دهنده میانگین \pm انحراف معیار می باشد. تعداد حیوان در هر گروه ۷ سر می باشد. مقدار ۵ میلی گرم نانو اکسید آهن نسبت به گروه شاهد با $P < 0.01$ (***) و مقدار ۱ میلی گرم با $P < 0.05$ (*) اختلاف معنی دار دارد.

بحث

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می دهد که نانو اکسید آهن در مقادیر کم (۱ میلی گرم بر کیلوگرم) به دلیل این که اثری بر فعالیت حرکتی نداشت، اثر ضد اضطرابی مشخصی اعمال می کند؛ اما با توجه به اثر تقویت کننده این ماده در مقادیر زیاد (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بر فعالیت حرکتی اثر ضد اضطرابی آن کاهش می یابد. به عبارت دیگر، افزایش فعالیت حرکتی حاصل از مقدار زیاد این دارو شاخص های ضد اضطرابی آن را تحت تأثیر قرار می دهد و این اثر مورد تردید واقع می گردد.

ماز به علاوه مرتفع، تستی غیر شرطی است که در بسیاری از مطالعات برای نشان دادن اثر اضطراب زایی و یا ضد اضطرابی داروها به کار می رود. در این تست، چندین فاکتور برای نشان دادن میزان اضطراب بررسی می شود که از همه مهم تر، میزان حضور در بازوی باز و تعداد تردد در آن ها است (۱۶، ۱۷). این دو فاکتور، در این مطالعه مورد توجه بود. ضمن این که، هر چه میزان حضور و تعداد ورود



شکل ۴. مقایسه اثر مقادیر مختلف نانوذرات اکسید آهن بر زمان تأخیر پاسخ به درد حاد در تست صفحه داغ

هر ستون نشان دهنده میانگین \pm انحراف معیار می باشد. تعداد حیوان در هر گروه ۷ سر می باشد. مقدار ۵ میلی گرم نانو اکسید آهن به ترتیب نسبت به گروه شاهد با $P < 0.01$ (***) و مقادیر ۰/۲ و ۱ میلی گرم بر کیلوگرم به ترتیب با $P < 0.01$ (***) و $P < 0.05$ (*) تفاوت معنی دار نشان می دهد.

نتایج فوق با سایر مطالعاتی که در خصوص کاربرد ترکیبات معمولی آهن صورت گرفته و یا نتایج مطالعاتی که پدیده‌های اضطراب و درد در نتیجه کمبود عنصر آهن در بدن را نشان داده است، هم‌خوانی دارد. برای مثال، نشان داده شده است که کمبود آهن باعث تغییر فعالیت و واکنش فیزیکی به محیط (مانند افزایش رفتارهای شبه اضطرابی) می‌شود (۷). همچنین، مشخص شده است که مصرف مکمل آهن باعث بهبود ۲۵ درصدی استرس و افسردگی در مادران دارای کمبود آهن می‌گردد (۵). گفته شده است که کاهش محتوای آهن مغز باعث کاهش گیرنده و انتقال دهنده‌های دوپامین در استریاتوم تنه، کورتکس جلو پیشانی و مغز میانی در موش‌ها می‌شود (۷). با توجه به این که رفتارهای شبه اضطرابی با تراکم انتقال دهنده‌ها و گیرنده‌های D_2 دوپامینی در کورتکس جلوپیشانی مرتبط می‌باشد (۱۱، ۷)، به نظر می‌رسد که آهن آزاد شده از نانو اکسید آهن در این مطالعه، بخشی از اثر ضد اضطرابی خود را از طریق سیستم دوپامینی انجام می‌دهد. از سوی دیگر، در مطالعه‌ای نشان داده شده است که آستانه درد و پاسخ به درد مزمن و حاد در موش‌های دارای فقر آهن کاهش می‌یابد و احتمال می‌رود، بین کاهش ذخیره آهن مغز و تضعیف عملکرد نوروترانسمیتری در قسمتی از مغز (جسم سیاه) ارتباط وجود داشته باشد. به عنوان مثال، در جسم سیاه می‌توان عملکرد دوپامین را به وسیله تغییر فعالیت تیروزین هیدروکسیلاز در گیرنده‌ها و یا انتقال دهنده‌های دوپامینی دچار اختلال کرد (۲۱). بنابراین، کمبود آهن به طور غیرمستقیم فعالیت فیبرهای انتقال دهنده درد را در سطح طناب نخاعی افزایش می‌دهد که در نهایت منجر به افزایش پاسخ درد حاد و مزمن می‌شود (۲۲).

در مطالعه‌ای دیگر، اثر تزریق محیطی بتا-اندورفین در موش‌های دارای کمبود آهن بررسی شد و آستانه درد به صورت قابل توجهی افزایش یافت. در فرضیه ارائه شده،

به بازاری باز بیشتر شود، میزان اضطراب کمتر است. با توجه به این که تغییر در حرکت حیوان می‌تواند میزان سنجش اضطراب را در این تست تحت تأثیر قرار دهد، تعیین میزان حرکت از ضروریات است. در ماز به علاوه مرتفع، دو فاکتور برای ارزیابی فعالیت حرکتی پیشنهاد شده است: (۱) تعداد ورود به بازاری بسته و (۲) جمع تعداد ورود به بازوهای باز و بسته (۱۹-۱۷). در این تحقیق ما مورد دوم را انتخاب نمودیم.

نتایج این مطالعه مبنی بر این که نانو اکسید آهن میزان حضور در بازاری باز و تعداد ورود به این بازو را به ویژه در مقدار ۱ میلی گرم بر کیلوگرم، بیشتر می‌کند با مطالعات و پروتکل ذکر شده فوق هم‌خوانی دارد و مورد تأیید است. لذا می‌توان گفت که نانو اکسید آهن در دوز ۱ میلی گرم بر کیلوگرم اثر ضد اضطرابی قابل ملاحظه‌ای دارد.

از سوی دیگر، همچنان که ملاحظه شد، نانو اکسید آهن در مقدار ۵ میلی گرم بر کیلوگرم تعداد ورود به بازاری باز را افزایش نداد ولی فعالیت حرکتی را که جمع اثر تعداد ورود به بازاری باز و بسته است، افزایش داد (شکل ۳)؛ به عبارت دیگر، تعداد ورود به بازاری بسته که اندیکس دیگری از فعالیت حرکتی است، را افزایش داد (۱۸، ۱۷). از آن جایی که اثر داروهای مؤثر بر اضطراب نباید تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر فعالیت حرکتی داشته باشد (۲۰)، به نظر می‌رسد، از اثر ضد اضطرابی نانو اکسید آهن در مقدار ۵ میلی گرم بر کیلوگرم به علت افزایش فعالیت حرکتی کاسته می‌شود؛ لذا نمی‌توان با اطمینان، اثر ضد اضطرابی را در این دوز گزارش نمود. بدین ترتیب، بهترین مقدار برای اثر ضد اضطرابی، ۱ میلی گرم بر کیلوگرم باشد.

در این تحقیق نشان داده شد که نانو اکسید آهن در مقادیر کم، اثر ضد دردی معنی‌داری ندارد، اما در مقدار ۵ میلی گرم بر کیلوگرم، که اثر ضد اضطرابی کمتری دارد با افزایش زمان پاسخ به درد حاد در دو تست صفحه داغ و پسکشیدن دم اثر ضد دردی نشان می‌دهد.

به هر حال، با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق و گزارش‌های حاصل از مطالعات قبلی، در صورت ورود حاد نانوذرات اکسید آهن به بدن در مصارف پزشکی و یا به‌طور ناخواسته از طریق مصارف صنعتی، این نانوذرات می‌تواند در مقادیر مشخص اثر ضداضطرابی و ضددردی را در بدن ایجاد کند.

سپاسگزاری

این تحقیق با همکاری مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به‌صورت گرانت (شماره ۶۳۶۴۱۰) انجام گرفته است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین، از آقای دکتر نجف‌زاده از دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر مساعدتشان در انجام این تحقیق، تشکر می‌گردد.

References

1. Prasad GL. Biomedical Applications of Nanoparticles. *Nanostructure Science and Technology* 2009; 89-100.
2. Noori A, Parivar K, Modaresi M, Messripour M, Yousefi MH, Amiri GR. Effect of magnetic iron oxide nanoparticles on pregnancy and testicular development of mice. *African Journal of Biotechnology* 2011; 10(7): 1221-7.
3. Wang B, Wang Y, Feng WY, Zhu MT, Wang M, Ouyang H, et al. Trace metal disturbance in mice brain after intranasal exposure of nano- and submicron-sized Fe₂O₃ particles. *Chemia Analytyczna* 2008; 53(6): 927-42.
4. Thorek DL, Chen AK, Czupryna J, Tsourkas A. Superparamagnetic iron oxide nanoparticle probes for molecular imaging. *Ann Biomed Eng* 2006; 34(1): 23-38.
5. Beard JL, Hendricks MK, Perez EM, Murray-Kolb LE, Berg A, Vernon-Feagans L, et al. Maternal iron deficiency anemia affects postpartum emotions and cognition. *J Nutr* 2005; 135(2): 267-72.
6. de Lima MN, Laranja DC, Caldana F, Grazziotin MM, Garcia VA, Dal-Pizzol F, et al. Selegiline protects against recognition memory impairment induced by neonatal iron treatment. *Exp Neurol* 2005; 196(1): 177-83.
7. Beard JL, Erikson KM, Jones BC. Neurobehavioral analysis of developmental iron deficiency in rats. *Behav Brain Res* 2002; 134(1-2): 517-24.
8. Beard JL. Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. *J Nutr* 2001; 131(2S-2): 568S-79S.
9. Elseweidy MM, Abd El-Baky AE. Effect of dietary iron overload in rat brain: oxidative stress, neurotransmitter level and serum metal ion in relation to neurodegenerative disorders. *Indian J Exp Biol* 2008; 46(12): 855-8.

10. Ashkenazi R, Ben-Shachar D, Youdim MB. Nutritional iron and dopamine binding sites in the rat brain. *Pharmacol Biochem Behav* 1982; 17 Suppl 1: 43-7.
11. Youdim MB, Ben-Shachar D, Ashkenazi R, Yehuda S. Brain iron and dopamine receptor function. *Adv Biochem Psychopharmacol* 1983; 37: 309-21.
12. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* 1985; 14(3): 149-67.
13. Zarrindast MR, Solati J, Oryan S, Parivar K. Effect of intra-amygdala injection of nicotine and GABA receptor agents on anxiety-like behaviour in rats. *Pharmacology* 2008; 82(4): 276-84.
14. Huang KH, Shyu BC. Differential stress effects on responses to noxious stimuli as measured by tail-flick latency and squeak threshold in rats. *Acta Physiol Scand* 1987; 129(3): 401-6.
15. Wang B, Feng WY, Wang M, Shi JW, Zhang F, Ouyang H, et al. Transport of intranasally instilled fine Fe₂O₃ particles into the brain: micro-distribution, chemical states, and histopathological observation. *Biol Trace Elem Res* 2007; 118(3): 233-43.
16. Pawlak CR, Karrenbauer BD, Schneider P, Ho YJ. The elevated plus-maze test: differential psychopharmacology of anxiety-related behavior. *Emotion Review* 2012; 4(1): 98-115.
17. Bourin M, Petit-Demouliere B, Dhonnchadha BN, Hascoet M. Animal models of anxiety in mice. *Fundam Clin Pharmacol* 2007; 21(6): 567-74.
18. Holmes A, Parmigiani S, Ferrari PF, Palanza P, Rodgers RJ. Behavioral profile of wild mice in the elevated plus-maze test for anxiety. *Physiol Behav* 2000; 71(5): 509-16.
19. Wall PM, Messier C. Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 2001; 25(3): 275-86.
20. Deacon RM. The successive alleys test of anxiety in mice and rats. *J Vis Exp* 2013; (76).
21. Connor JR, Wang XS, Allen RP, Beard JL, Wiesinger JA, Felt BT, et al. Altered dopaminergic profile in the putamen and substantia nigra in restless leg syndrome. *Brain* 2009; 132(Pt 9): 2403-12.
22. Dowling P, Klinker F, Amaya F, Paulus W, Liebetanz D. Iron-deficiency sensitizes mice to acute pain stimuli and formalin-induced nociception. *J Nutr* 2009; 139(11): 2087-92.
23. Yehuda S, Youdim MB. The increased opiate action of beta-endorphin in iron-deficient rats: the possible involvement of dopamine. *Eur J Pharmacol* 1984; 104(3-4): 245-51.
24. Grachev ID, Fredrickson BE, Apkarian AV. Dissociating anxiety from pain: mapping the neuronal marker N-acetyl aspartate to perception distinguishes closely interrelated characteristics of chronic pain. *Mol Psychiatry* 2001; 6(3): 256-8.
25. Wallace VCJ, Segerdahl AR, Rice ASC. Anxiety-like behaviour is attenuated by gabapentin, morphine and diazepam in a rodent model of HIV anti-retroviral-associated neuropathic pain. *Neurosci Lett* 2008; 448(1-9): 153-6.

Effect of Fe₂O₃ Nanoparticles on Anxiety Behavior and Nociception in Adult Male Rat

Kesmati M., Ph.D.¹, Khorshidi M., B.Sc.²

1. Associate Professor of Physiology, Department of Biology, School of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

2. MSc Student, Department of Biology, School of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

* Corresponding author; e-mail: m.kesmati@scu.ac.ir

(Received: 6 Nov. 2012 Accepted: 31 July 2013)

Abstract

Background & Aims: Iron is an essential element for correct brain function. Iron deficiency changes some behaviors such as anxiety and nociception. Recently, nano-iron, Ferric or ferro oxide (nano-Fe₂O₃ or Fe₃O₄), are used in various applications in agriculture, industry and medicine, but their effects on the health and behavior is not clear. In this study, the effects of Fe₂O₃ nanoparticles on animal models of anxiety and nociception were investigated.

Methods: Adult male Wistar rats (mean weight: 200-250 g) were used in 12 groups: 3 control groups (receiving saline 0.9%) and 9 groups received nano-Fe₂O₃ in doses of 0.2, 1 and 5 mg/kg, intraperitoneally. Elevated plus maze apparatus and hot-plate and tail-flick tests were used to evaluate anxiety and nociception, respectively. Data were analyzed by one-way ANOVA and post hoc least significant difference (LSD) and P < 0.05 used as significant level.

Results: Fe₂O₃ nanoparticles with dose addition increased open arm time percent (OAT%) (P<0.05). Locomotor activity, just in dose of 5 mg/kg, increased pain delay time in both hot-plate (P<0.01) and tail-flick (P<0.01) tests.

Conclusion: Acute administration of Fe₂O₃ nanoparticle decreases anxiety behaviors in elevated plus maze and increases an acute pain threshold in both hot-plate and tail-flick tests in rats.

Keywords: Anxiety, Pain, Fe₂O₃ nanoparticle, Rat

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2014; 21(1): 1-10