فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۷ (۲)، ۲۰۴ – ۲۱۵
تابستان ۱۳۹۲

فیزیولوژی و فارماکولوژی

مقایسه اثر نانواکسیدآهن و اکسید آهن توده ای بر سطح دوپامین و سروتونین هیپوکمپ و رابطه اش با حافظه در موش صحرایی نر بالغ

مرضیه خورشیدی[۱]، مهناز کسمتی[۱*]، لطف الله خواجه پور[۱]، حسین نجف زاده ورزی[۲]
۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز
۲. گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

دریافت: ۱۱ دی ۹۱ پذیرش: ۲۵ اردیبهشت ۹۲

چکیده

مقدمه: با پیشرفت روز افزون نانوتکنولوژی، نانو مواد بجای ترکیبات معمولی مورد استفاده قرار می‌گیرند. یکی از نانو موادی که در زمینه زیست پزشکی کاربرد فراوان دارد، نانواکسیدآهن است که در زمینه اثرات و عوارض آن بر فاکتورهای فیزیولوژیک مطالعه چندانی صورت نگرفته است. در این مطالعه اثر نانواکسیدآهن در مقایسه با نوع توده ای آن بر حافظه احترازی غیر فعال کوتاه و بلند مدت و میزان سروتونین و دوپامین هیپوکامپ های طرفین بررسی شده است.

روش ها: در این مطالعه ۸۰ سر موش صحرایی نر بالغ در ۱۰ گروه با وزن ۳۰±۲۲۰ گرم استفاده شد که به جهت سنجش رفتاری و تعین نوروترانسمیترهای مغزی در دو بخش قرار گرفتند. در بخش اول، حیوانات مقادیر مختلف (۰/۲، ۱، ۵ mg/kg) اکسید و نانواکسیدآهن را بصورت درون صفاقی پیش از آموزش دریافت کردند. سپس حافظه آنها ۹۰ دقیقه و ۲۴ ساعت بعد از آموزش با استفاده از دستگاه استپ ثرو ارزیابی شد. در بخش دوم، هیپوکامپ حیوانات هر گروه پس از دریافت مقدار موثر (۵ mg/kg) اکسید و نانواکسیدآهن خارج و سطح نوروترانسمیترهای آنها با کیت الایزا اندازه گیری شد.

یافته ها: نانواکسیدآهن بصورت وابسته به مقدار حافظه احترازی غیر فعال را مختل نمود در حالیکه اکسید آهن توده ای تاثیر جزئی غیر معنی داری نشان داد. هر دو اکسید آهن باعث کاهش سطح دوپامین و افزایش معنی دار و یا نسبی سروتونین هیپوکامپ های طرفین شدند.

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد که تخریب حافظه حاصل از نانواکسیدآهن بخشی مربوط به تغییر سطح نوروترانسمیترهای هیپوکمپ و بخشی مربوط به ویژگیهای فیزیکوشیمیایی آن باشد.

واژه‌های کلیدی: حافظه، نانواکسیدآهن، سروتونین، دوپامین

مقدمه

بیشتر موجودات زنده برای بقای خود به آهن نیاز دارند [۳۹]. آهن برای تکامل دستگاه عصبی مرکزی حیاتی است و در چندین فرایند متابولیک مغزی شرکت می‌کند [۸، ۲۲، ۲۴]. مطالعات اخیر گزارش کرده‌اند که آهن در سنتز [۳، ۹، ۴۴]، بسته بندی، جذب و تجزیه‌ی نوروترانسمیترها به دیگر پروتئین‌های حاوی آهن، که ممکن است مستقیماً و یا غیر مستقیم عملکرد مغز را تغییر دهند، شرکت می‌کند [۱، ۲]. مغز به چند دلیل به آهن نیاز دارد از جمله: آهن در فنیل آلانین هیدروکسیلاز، تیروزین هیدروکسیلاز و همچنین در مسیر نوروترانسمیترهای دوپامینرژیک، میلین سازی، در میتوکندریها برای افزایش سطح تولید انرژی و برای همانندسازی DNA /چرخه سلولی مشارکت دارد [۱۱].

هومئوستاز آهن مغز برای عملکرد طبیعی آن ضروری

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: m.kesmati@scu.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

Archive of SID
www.SID.ir

است؛ علی رغم اهمیت آن برای عملکرد طبیعی مغز، هومئوستازی آهن در دستگاه عصبی مرکزی به خوبی شناخته نشده است [۱۶]. تمایل آهن به کاتالیز شدن منجر به ایجاد رادیکال‌های آزاد سمی می‌شود [۳۹]. فعال شدن آهن فرو با پراکسید هیدروژن[1] یا پراکسید های لیپیدی منجر به تولید آهن فریک، OH و رادیکال‌های بسیار فعال هیدروکسیل[2] یا رادیکال‌های لیپیدی مانند LO° و LOO° می‌شود. این رادیکال‌ها باعث صدمه به غشاهای لیپیدی، پروتئین‌ها و اسید های نوکلئیک می‌شوند. بیشتر آثار پاتولوژیک افزایش عمومی آهن ناشی از تجمع آهن در بافت‌هاست [۱۴].

تغییر در غلظت آهن مغز با تأخیر در تکامل روانی–حرکتی و تخریب قابلیت‌های فکری در کودکان مرتبط است. کاهش غلظت آهن با تغییر در هدایت فیبرهای مغزی، تغییر در سیستم‌های نوروترانسمیتری دوپامینرژیک، سروتونرژیک، گاباارژیک و همچنین تغییر در شکل گیری میلین همراه می‌باشد [۱]. افزایش محتوای آهن نیز در مناطق خاصی از مغز ممکن است رادیکال‌های آزاد سیتوتوکسیک تولید کند و منجر به چندین اختلال نورودژنراتیو دیگر مانند: پارکینسون، آلزایمر و بیماری هانگتینگتون شود [۸].

در مطالعات متعدد گزارش شده است که Fe^{+2}، اکسیداسیون مونوآمین ها از قبیل دوپامین و سروتونین را افزایش می‌دهد. محصولات رادیکال آزاد اکسیژن تولید شده، می‌توانند با گروه سولفیدریل هم ظرفیت خود (جزئی از پروتئین‌هایی مانند پروتئین‌های باند شونده با سروتونین می‌باشد که در عصاره‌ی مغزی محلول وجود دارند) باند شوند. بنابراین آهن می‌تواند سمیت سلولی دوپامین را به واسطه‌ی افزایش در اکسیداسیونش بدون دخالت آنزیم B–اکسیدازمونوآمین، افزایش دهد. این مشاهدات به مکانیسمی که طی آن نورون های سیستم دوپامینرژیک در بیماری‌های نورودژنراتیو (از قبیل: بیماری پارکینسون) دچار تخریب می‌شود، مربوط می‌گردد [۹، ۳۸].

مشخص شده است که انسان برای یک مدت طولانی در تماس با نانو مواد موجود در هوا می‌باشد. تماس با نانو مواد به واسطه‌ی فعالیت‌های صنعتی، با افزایش سنتز طیف وسیعی از نانو مواد و همچنین افزایش استفاده‌شان خصوصاً مرتبط با سلامتی انسان همراه می‌باشد [۱۵، ۲۷، ۳۶]. بنابراین سؤال‌های زیادی در این مورد مطرح می‌شود؛ که آیا این چنین موادی وارد بدن انسان می‌شوند و آیا می‌توانند سلامتی را تحت تأثیر قرار دهند. در بین نانو مواد، نانواکسیدآهن به دلیل ویژگی‌های سوپر پارامغناطیسی و کاربردهای بالقوه آن در بسیاری از زمینه‌ها توجهات را به طور گسترده به خود جلب کرده است. از جمله کاربرد نانوذرات اکسیدآهن می‌تواند به استفاده آن در زمینه های مختلف زیست–پزشکی شامل: عکس برداری فلورسنت–مغناطیسی، درمان و تشخیص انواع بیماری‌ها از جمله: بیماری‌های تخریبی و التهابی، تومورها، اختلالات عصبی–عروقی [۴، ۱۰، ۳۵] اشاره کرد.

با توجه به افزایش استفاده از نانومواد خصوصاً نانواکسیدآهن در تولیدات صنعتی و مصرفی و در نظر داشتن آنها به عنوان امیدی در جهت بهبود تشخیص و درمان انواع بیماری‌های انسانی و با نگاه ویژه به نقش اساسی آهن در فرآیندهای فیزیولوژیکی بدن، ضروری است که بافت‌های پایه و اساسی (از جمله مغز) را تحت تأثیر این نانومواد قرار داده و چگونگی واکنش آنها در سیستم‌های بیولوژیک مورد ارزیابی و سنجش قرار گیرد. از آنجا که تا کنون مقایسه ای بین اثرات اندازه های مختلف اکسید آهن بر عملکرد مغز صورت نگرفته است لذا در این تحقیق اثر نانو ذرات اکسید آهن در مقایسه با نوع توده ای (معمولی) آن بر حافظه کوتاه و بلند مدت و سطح سروتونین و دوپامین موجود در هیپوکمپ، به عنوان مهم‌ترین مرکز دخیل در حافظه، بررسی شده است.

مواد و روش ها

جهت انجام این کار پژوهشی ۸۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۳۰ ±۲۲۰ گرم از دانشکده پزشکی دانشگاه جندی شاپور اهواز تهیه شد. موش‌ها پس از انتقال به خانه‌ی حیوانات بصورت ۴ تایی در قفس‌ها توزیع شدند و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. دمای نگهداری حیوانات ۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد بود. غذای حیوانات از کارخانه‌ی دام و طیور چاودانه

1. H_2O_2
2. OH°

Archive of SID
www.SID.ir

اصفهان تهیه شد. برای آسان شدن کار و سازش با شرایط محیط و آزمایش کننده، حیوانات سه روز قبل از آموزش، روزانه به مدت ۳ تا ۵ دقیقه دست آموز شدند. آموزش و آزمون در دوره‌ی روشنایی و در محدوده‌ی ساعت ۹ تا ۱۴ انجام می‌گرفت. در بخش اول ۶ گروه از حیوانات مقادیر مختلف (۰/۲، ۱، ۵ mg/kg) [۳۰] نانو اکسید آهن و اکسیدآهن معمولی (حل شده در سالین) را بصورت تزریق حاد درون صفاقی با حجم ۱۰ml/kg، نیم ساعت پیش از آموزش دریافت کردند و سپس پروتکل سنجش حافظه احترازی غیر فعال انجام شد. گروه شاهد سالین دریافت کردند.

در بخش دوم، ۲ گروه از حیوانات دوز موثر اکسید آهن توده ای و نانواکسیدآهن را به صورت فوق قبل از آموزش دریافت نمودند. گروه شاهد سالین دریافت کردند. نیمی از حیوانات هر گروه ۹۰ دقیقه و نیمی دیگر ۲۴ ساعت پس از تزریق آسان کشی شده و هیپوکامپ آنها جهت تعیین تغییرات نوروترانسمیترهای مغزی استخراج گردید. از داده های روز اول و دوم هر گروه میانگین بدست آورده تا نمودار حاصله میانگین داده های حیوانات در هر دو زمان باشد.

در این تحقیق از نانوذرات اکسید آهن با سایز متوسط ۲۵ نانومتر استفاده شد. اکسید و نانواکسید آهن در سرم فیزیولوژی ایجاد سوسپانسیون می‌کند. بنابراین ابتدا توسط همزن برای چند دقیقه هم زده شده، سپس توسط یک ویبره کننده (نوسان ساز) اولتراسونیک برای ۱۵ دقیقه پراکنده شدند [۴۱].

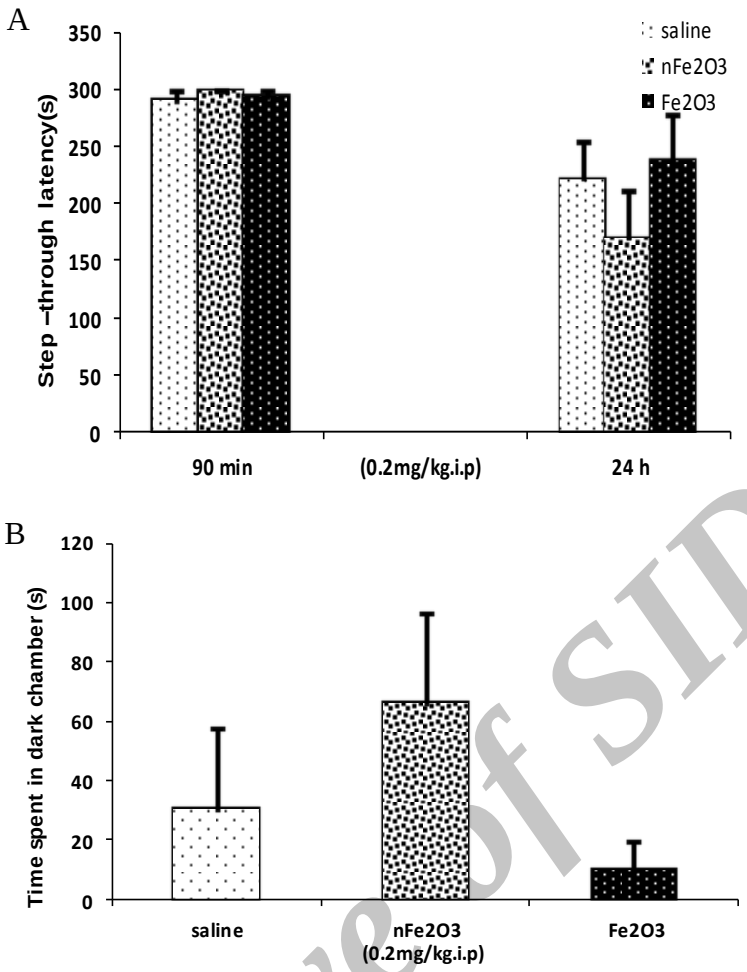
در این مطالعه جهت سنجش حافظه‌ی احترازی غیر فعال از دستگاه استپ- ثرو (Step–through) استفاده گردید. این دستگاه جعبه ای از جنس پلکسی گلاس و متشکل از دو بخش سفید (روشن) و سیاه (تاریک) است. دریچه ای که در بین دو بخش قرار دارد، در مواقع لزوم باز شده و حیوان می‌تواند از یک بخش به بخش دیگر برود. بخش تاریک توسط سقف سیاه رنگی پوشیده می‌شود. در کف آن نیز میله های فولادی تعبیه شده که توسط کابل ارتباطی به استیمولاتور متصل است. این دستگاه قادر است یک جریان الکتریکی به شدت یک و نیم میلی آمپر به مدت سه ثانیه با فرکانس ۵۰ هرتز را در این میله‌ها رها کند که موجب وارد شدن شوک الکتریکی به دست و پای حیوان می‌گردد. وقتی حیوان در بخش روشن قرار گیرد بر اساس تمایل ذاتی به تاریکی، بلافاصله به بخش تاریک می‌رود. در صورتیکه در این مکان به حیوان شوک وارد شود، بر خلاف میل ذاتی از رفتن به درون بخش تاریک اجتناب می‌کند. به عبارت دیگر یک یادگیری احترازی غیر فعال شکل می‌گیرد. این یادگیری می‌تواند به صورت کوتاه مدت یا طولانی مدت باشد و در اثر داروها تقویت یا تضعیف گردد. برای مطالعه حافظه کوتاه مدت (۹۰ دقیقه) و بلند مدت (۲۴ساعت) در این روش یادگیری، آزمایش‌ها در سه مرحله انجام می‌گیرد. مرحله اول آموزش و مرحله دوم و سوم آزمون.

آموزش: در مرحله آموزش، هر حیوان به آرامی در بخش روشن دستگاه قرار می‌گیرد. بعد از مدت ۱۰ ثانیه دریچه باز می‌شود تا حیوان بر اساس تمایل ذاتی خود وارد بخش تاریک شود. به محض ورود حیوان به بخش تاریک حیوان از دستگاه خارج می‌گردد و زمان تأخیر ورود حیوان به داخل بخش تاریک ثبت می‌شود (اگر این زمان بیشتر از ۱۰۰ ثانیه بود حیوان از گروه آزمایش حذف می‌شود). بدین صورت حیوان با دستگاه آشنا می‌شود (سازگاری). بعد از ۳۰ دقیقه مجدداً حیوان به بخش روشن انتقال داده شده و پس از گذشت ۱۰ ثانیه دریچه باز می‌شود. بلافاصله پس از ورود حیوان به بخش تاریک، دریچه بسته شده و یک شوک الکتریکی به دست و پای حیوان داده می‌شود. در این حالت به علت بسته بودن سقف بخش تاریک، حیوان نمی‌تواند از دریافت شوک اجتناب کند. ۲۰ ثانیه بعد از دریافت شوک، حیوان از دستگاه خارج شده و به قفس خود منتقل می‌شود [۳۱].

برای بررسی حافظه کوتاه مدت حیوان،۹۰ دقیقه بعد از مرحله آموزش، آزمون انجام می‌گیرد. در این مرحله شوک الکتریکی داده نمی‌شود. برای هر حیوان حداکثر زمان تأخیر۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شود. زمان تأخیر ورود حیوان به بخش تاریک به عنوان داده های آزمایش ثبت می‌شود.

برای بررسی حافظه بلند مدت ۲۴ ساعت پس از آموزش آزمونی مشابه با آزمون کوتاه مدت انجام می‌شود. زمان تأخیر ورود حیوان به خانه تاریک ثبت می‌گردد [۱۹، ۳۱]. به خاطرآوری دریافت شوک در بخش تاریک، موجب مهار تمایل ذاتی حیوان برای ورود به بخش تاریک و اجتناب از ورود به آن می‌شود. افزایش زمان تأخیر ورود حیوان در مرحله آزمون، نشان دهنده تقویت حافظه بوده و کاهش آن تضعیف حافظه را

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱- مقایسه اثر تزریق پیش از آموزش دوز ۰/۲ mg/kg اکسید و نانواکسیدآهن بر حافظه کوتاه مدت و بلند مدت؛ a- زمان تأخیر در ورود به اتاق تاریک و b-زمان سپری شدن در اتاق تاریک. در هر گروه ۸ سر موش آزمایش شده است.

نشان می‌دهد [۳۱].

تهیه عصاره هیپوکامپ

برای بررسی تغییر سطح نوروترانسمیترها مانند سروتونین، دوپامین درون هیپوکامپ، ابتدا عصاره‌ی هیپوکامپ تهیه شد. برای این منظور ابتدا حیوانات هر گروه پس از دریافت مقدار موثر (۵ mg/kg) اکسید و نانو اکسید آهن، در دو زمان ۹۰ دقیقه و ۲۴ ساعت پس از تزریق آسان کشی شده و پس از جدا کردن سر حیوان از بدن (بوسیله اسکالپل)، مراحل جداسازی هیپوکامپ با نهایت دقت و ظرافت انجام شد. هیپوکامپ استخراج شده ابتدا وزن شده، سپس در میکروتیوپ حاوی ۱ میلی لیتر از محلول اسید فرمیک ۰/۵ مولار سرد قرار گرفت و هموژنیزه گردید [۳۳]. سپس محلول آماده شده به دستگاه سانتریفیوژ (۲۰ دقیقه- دمای ۴ درجه سانتی‌گراد- دور ۱۴۰۰۰) منتقل شد. پس از اتمام سانتریفوژ، محلول سفید رنگ و شفافی که در قسمت بالایی میکروتیوپ قرار داشت به میکروتیوپ جدید منتقل گردید و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگه داری شد. در نهایت نمونه‌ها با کیت الایزای (کیت اختصاصی سروتونین، دوپامین) تهیه شده، بررسی شدند.

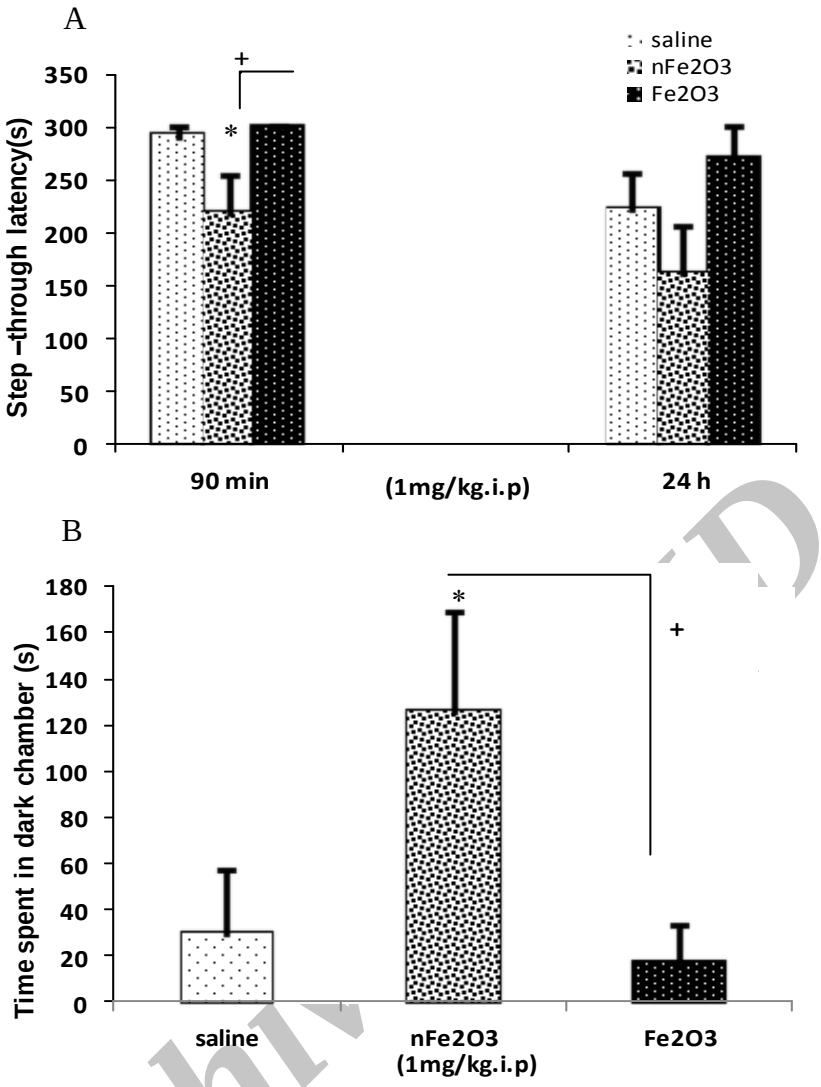
به منظور بررسی داده های حاصل از این پژوهش از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. داده ها بر اساس آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون LSD و بر مبنای α= ۰/۰۵ بررسی گردید.

یافته ها

بخش اول: مقایسه اثر تزریق پیش از آموزش اکسید و نانواکسیدآهن بر حافظه کوتاه مدت و بلند مدت

شکل ۱-۱، زمان تأخیر در ورود به اتاق تاریک (شکل ۱-

Archive of SID
www.SID.ir



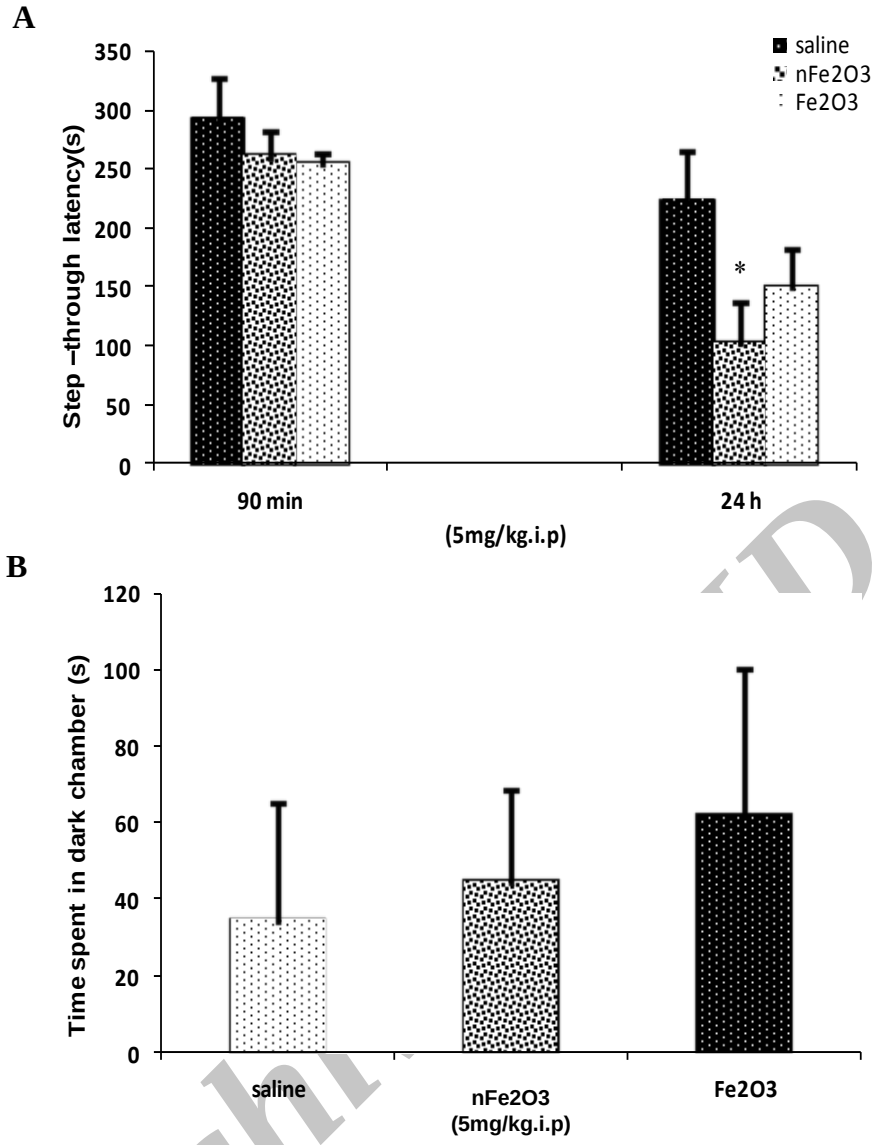
شکل ۲- مقایسه اثر تزریق پیش از آموزش دوز mg/kg ۱ اکسید و نانواکسیدآهن بر حافظه کوتاه مدت و بلند مدت؛ a- زمان تـأخیر در ورود بـه اتـاق تاریـک و b- زمـان سپری شدن در اتاق تاریک. در هر گروه ۸ سر موش آزمایش شده است. p<۰/۰۵* در مقایسه با گروه کنترل و p<۰/۰۵+ در مقایسه با گروه های دریافت کننده دارو.

a) و زمان سـپری شـدن در اتـاق تاریـک (شـکل ۱-b) بـین گروههای دریافت کننده مقدار (۰/۲ mg/kg) دارو و کنتـرل را مقایسه می‌کند که تفاوت معنی داری را نشان نمی‌دهد. به نظر می‌رسد که تزریق پیش از آموزش مقدار ۰/۲ mg/kg اکسید و نانواکسیدآهن تأثیری معنی داری بر حافظه کوتاه و بلند مـدت ایجاد نمی‌کند.

در شکل ۲، زمان تأخیر ورود به اتاق تاریک (شـکل ۲-a) و زمـان سـپری شـدن در اتـاق تاریـک (شـکل ۲-b) بـین گروههای دریافت کننده مقدار (۱ mg/kg) اکسید و نانو اکسید آهن و کنترل مقایسه شده است. آنـالیز واریـانس یـک طرفـه تفاوت معنی داری را بین گروههای دریافت کننده نانو اکسـید آهن نسبت به گروه کنترل و اکسید آهن تـوده ای در حافظـه کوتاه مدت نشان می‌دهـد (p<۰/۰۵). همچنـین مـدت زمـان سـپری شـده در اتـاق تاریـک در گـروه دریافـت کننـده نانواکسیدآهن نسـبت بـه کنتـرل و اکسـید آهـن تـوده ای در حافظـه بلنـد مـدت افـزایش معنـی داری را نشـان مـی‌دهـد (p<۰/۰۵)؛ بدین ترتیب نانواکسید آهن در این مقدار نسبت به نوع معمولی در تخریب حافظه مؤثرتر است.

شکل ۳، زمان تأخیر در ورود به اتاق تاریک (شـکل ۳-a) و زمـان سـپری شـدن در اتـاق تاریـک (شـکل ۳-b) بـین گروههای دریافت کننده مقدار (۵ mg/kg) اکسید و نانو اکسید آهن و کنترل را مقایسه می‌کنـد. آنـالیز آمـاری تفـاوت معنـی داری را بین گروه های دریافت کننده اکسید و نانو اکسید آهن نسبت به گروه کنترل در شاخص زمان تـأخیر ورود در حافظـه

www.SID.ir



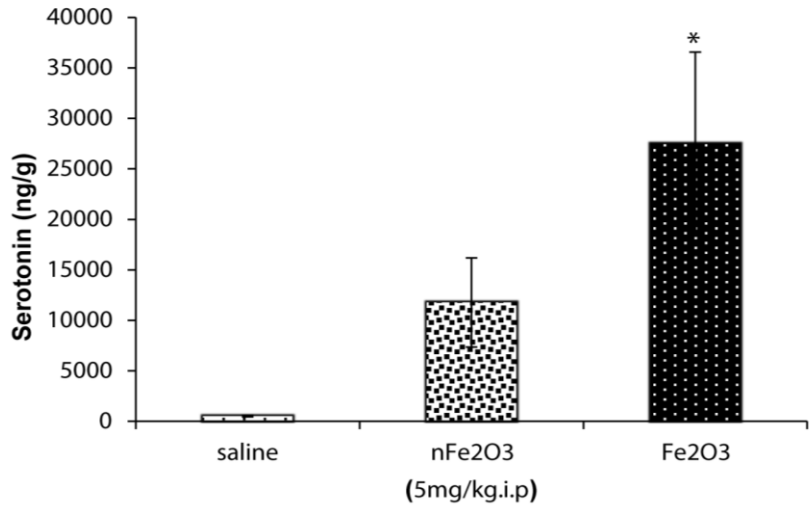
شکل۳- مقایسه اثر تزریق پیش از آموزش دوز mg/kg ۵ اکسید و نانواکسیدآهن بر حافظه کوتاه مدت و بلند مدت؛ a- زمان تأخیر در ورود به اتاق تاریک و b- زمان سپری شدن در اتاق تاریک. در هر گروه ۸ سر موش آزمایش شده است. ۰/۰۵>p* در مقایسه با گروه کنترل

کوتاه مدت نشان نداد در حالیکه نانو اکسید آهن باعث کاهش این شاخص در حافظه بلند مدت شد و اکسید آهن توده ای بطور نسبی آن را کاهش داد. ضمناً در شاخص زمان سپری شدن در اتاق تاریک هر دو اکسید آهن تغییر معنی داری ایجاد ننموده هرچند که اکسید آهن توده ای افزایش نسبی را در این شاخص نشان داد. بررسی نتایج حاصل از مقایسه دوزهای مختلف اکسید و نانو اکسید آهن بر دو فاکتور مذکور نشان داد که اثر تخریبی نانو اکسید آهن از مقدار ۱ میلی گرم شروع شده و در مقدار ۵ میلی گرم، زمان تأخیر ورود به اتاق تاریک کاهش بیشتری یافته لذا اثر مخربتری اعمال نموده است. ضمناً اکسید آهن توده ای در این مقدار با کاهش نسبی زمان تأخیر ورود و افزایش نسبی سپری شدن اثرات تخریبی جزئی نیز نشان داده است (مقایسه نمودارهای ۱-۱، ۱-۲، ۱-۳) لذا برای ادامه کار یعنی سنجش نوروترانسمیترهای هیپوکمپ در گروههای بعدی، از دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم اکسید و نانو اکسید آهن استفاده شد.

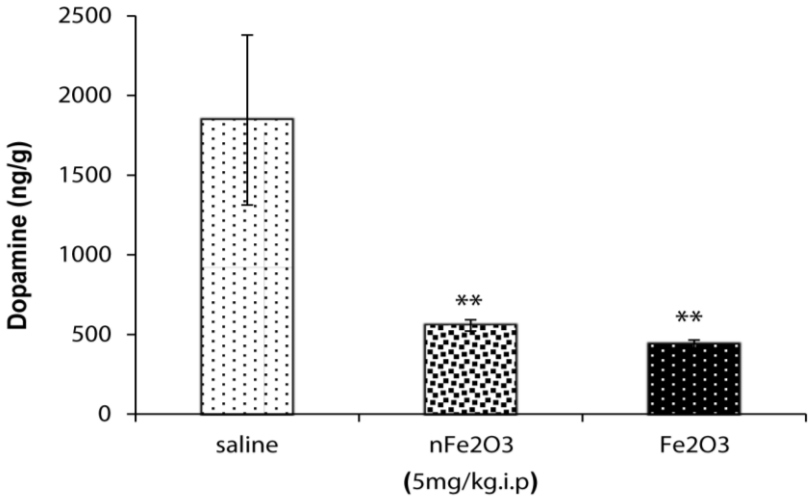
بخش دوم: بررسی اثر اکسید و نانواکسیدآهن بر سطح نوروترانسمیترهای درون دو نیم کره‌ی هیپوکامپ

شکل۴ اثر تزریق مقدار mg/kg ۵ اکسید و نانواکسیدآهن بر سطح سروتونین درون دو نیم کره‌ی هیپوکامپ و مقایسه آنها با گروه کنترل را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه تغییر معنی داری را در سطح سروتونین هیپوکامپ در گروه

www.SID.ir



شکل ٤- اثر تزریق مقدار mg/kg ۵ اکسید و نانواکسیدآهن بر سطح سروتونین درون دو نیم کره ی هیپوکامپ. هر ستون نمایانگر میانگین± انحراف معیار میانگین. ۰/۰۵>p* در مقایسه با گروه کنترل.



شکل ۵- اثر تزریق مقدار mg/kg ۵ اکسید و نانواکسیدآهن بر سطح دوپامین درون دو نیم کره ی هیپوکامپ. هر ستون میانگین± انحراف معیار میانگین. ۰/۰۱>p** در مقایسه با گروه کنترل.

دریافت کننده اکسیدآهن نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد (p<۰/۰۵). در گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن نیز سطح سروتونین افزایش یافته است، که این افزایش معنی دار نمی‌باشد (p<۰/۰۶).

سطح دوپامین درون دو نیم کره‌ی مغز در گروه های دریافت کننده مقدار mg/kg ۵ اکسید و نانواکسیدآهن در مقایسه با گروه کنترل در شکل۵ نشان داده شده است. بررسی آماری داده‌ها تغییر معنی داری (p<۰/۰۱) را در گروه های دریافت کننده دارو نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد. بدین ترتیب اکسید و نانواکسیدآهن در دوز mg/kg ۵ سطح دوپامین درون دو نیم کره‌ی هیپوکامپ را در طی یک روز کاهش می‌دهند.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نانواکسیدآهن بعضاً باعث اختلال در حافظه کوتاه و یا بلند مدت شده که این امر اگرچه در گروه دریافت کننده اکسیدآهن (در مقدار ۵ میلی گرم) بطور نسبی مشاهده شد اما معنی دار نبود. این درحالی است که هر دو ترکیب با اندکی تفاوت بصورت نسبی یا معنی دار سطح دوپامین و سروتونین درون دو نیم کره‌ی هیپوکامپ را تغییر دادند. بدین صورت که باعث افزایش معنی دار و نسبی

www.SID.ir

سروتونین و باعث کاهش دوپامین شدند.

اثر تخریبی نانو اکسید آهن بر حافظه با نتایج برخی مطالعات که اکسید و یا نانو اکسید آهن را به شکل‌های مختلف و به منظور بررسی اثرات آنها بر حافظه شناختی و سیستم عصبی مدل‌های حیوانی بکار برده بودند هم خوانی دارد. در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۵ توسط دی لیما و همکارانش صورت گرفت، بیان کردند که تیمار با آهن در دورهٔ نوزادی حافظه شناختی بلند مدت را در موش‌های صحرایی بالغ تخریب می‌کند و در نواحی خاصی از مغز که در شکل گیری حافظه نقش دارد، آسیب‌های اکسیداتیو ایجاد می‌کند [۶]. همچنین در مطالعه ای دیگر نشان دادند که تیمار با آهن در دوره نوزادی منجر به پراکسیداسیون لیپید ها و کربونیلاسیون پروتئین‌ها در هیپوکامپ، قشر مغز و جسم سیاه می‌شود که نهایتاً منجر به ضعف شناختی می‌گردد [۷].

همچنین مشاهدات بافت شناسی حاصل از تجویز درون بینی نانواکسیدآهن به صورت مزمن نشان داد که میلین نورون ها در ناحیه هیپوکمپ دچار تخریب شده است. نتایج به دست آمده از مطالعه آنها نشان دهنده‌ی اثر مضر استشمام نانوذرات Fe_2O_3 در مغز می‌باشد [۳۸]. در این رابطه گزارشی نشان می‌دهد که عدم تعادل فلزات موثر (Fe، Zn و Cu) در نواحی زیر مغزی موش کوچک آزمایشگاهی، به وسیله‌ی هر دو اندازه میکرو و نانو اکسیدآهن القا می‌شود [۳۹].

شواهد زیادی نشان می‌دهد که افزایش سطح آهن در ساقه مغز با بسیاری از انواع بیماری‌های تخریب کننده عصبی از جمله آلزایمر و پارکینسون مرتبط می‌باشد [۹، ۱۳، ۲۱، ۴۱]. مطالعات نشان داده است که استرس اکسیداتیو به طور عمده به وسیله‌ی هردو اندازه Fe_2O_3 القا می‌شود؛ اما اندازه نانو تغییرات عمده تری را القا کرده و پاسخ دوز موثر آن نسبت به اندازه میکرون معنی‌دارتر می‌باشد. به دنبال تجویز هر دو اندازه Fe_2O_3 اختلالات مشخصی در ترشح نوروترانسمیترهای مونوآمین هیپوکمپ یافت شده است [۴۰].

بدین ترتیب هم اکسید و هم نانو اکسید قابلیت سمی داشته و باعث اختلال در روندهای عصبی خواهند شد . اما چرا در این مطالعه دوزهای بکار رفته اکسید آهن تأثیر معنی داری را ایجاد نکرد به نظر می‌رسد یا دوز آن باید افزایش یابد و یا مدت زمان بیشتری باید داده شود تا اثر رفتاری دارو بر حافظه احترازی غیر فعال نمایان شود. اما اینکه چرا نانو اکسید آهن موثر تر بوده است دلایلی دارد که برخی در بالا اشاره شد. اضافه بر آن برخی تحقیقات نشان داده‌اند که نانو داروها نسبت به داروهای معمولی دارای ویژگی‌ها و مزیت‌های خاصی هستند. در واقع خصوصیت مهم نانو داروها بالاتر بودن نسبت سطح به حجم آن‌ها در مقایسه با داروهای معمولی است که این افزایش نسبی، واکنش شیمیایی و بیولوژیکی آن‌ها را با سایر مواد موجود در بدن تسهیل می‌کند. از سوی دیگر کوچک‌تر شدن اندازه ذره، به افزایش سرعت جذب و عبور راحت‌تر آن‌ها از سد خونی مغزی کمک می‌کند [۱۸، ۲۵]، البته شایان ذکر است که این امر گاهی می‌تواند باعث تولید بیشتر رادیکال‌های آزادی مانند رادیکال آزاد اکسیژن شود. به همین دلیل توجه به عوارض و سمیت نانو داروها نیز از جمله موارد مهمی است که در به کار گیری آن‌ها، باید مورد توجه خاص قرار گیرد [۳۱].

برای مثال نشان داده شده که فلزات موثر به ویژه آهن و مس می‌توانند تبدیل O_2^- (آنیون رادیکال سوپراکسید) یا H_2O_2 (پراکسید هیدروژن) را به OH° (رادیکال آزاد هیدروکسید) به وسیله‌ی واکنش‌های فنتون یا هابرویس[1] انجام دهند [۵، ۹، ۴۲]. بنابراین تولید گونه های اکسیژن واکنشی اثرات سمی نانوذرات را موجب می‌شود [۲۶، ۴۲]. اخیراً در مطالعه ای دیگر نشان داده شده است که تجویز درون بینی نانوذرات اکسید آهن Fe_2O_3 می‌تواند منجر به تغییر پاتولوژیکی در پیاز بویایی، هیپوکمپ و استریاتوم شود. بعلاوه مشاهده شده است که تجویز نانواکسیدآهن منجر به تکثیر و فعالسازی سلول های میکروگلیال در CNS شده و آزاد سازی گونه های اکسیژن واکنشی و نیتریک اکساید را القا می کند [۴۳].

در رابطه با نقش نوروترانسمیترهای دوپامین و سروتونین در حافظه و اثرات ترکیبات آهن بر آنها نیز شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد سیستم دوپامینرژیک نیز نقش مهمی را در یادگیری، حافظه و فرآیندهای توجه ایفا می‌کند [۱۲، ۲۸] و مشخص شده آهن اثرات سیتوتوکسیک بر هیپوکامپ داشته و می‌تواند به طور غیر مستقیم نواحی دیگر مغز را تحت تأثیر

1. Fenton or Haber Weiss reactions

www.SID.ir
Archive of SID

قرار دهد. به عنوان مثال سیستم دوپامینرژیک در جسم سیاه به وسیله تجمع آهن آسیب می‌بیند. چون این ناحیه از مغز از ساختارهای لیمبیک، قشر مغز و به ویژه هیپوکامپ راه‌هایی دریافت می‌کند. این امر می‌تواند تأثیر جدی بر پاسخ‌های نواحی مغز که در فرایندهای یادگیری، حافظه و هیجان درگیر هستند، اعمال نماید. بنابراین تجمع آهن در جسم سیاه ممکن است رادیکال‌های آزاد سیتوتوکسیک ایجاد کند و منجر به آسیب دوپامینرژیک و متعاقباً آسیب‌های رفتاری شود [۲۲].

در مطالعه‌ای دیگر نیز گزارش شده است که در موش‌های تیمار شده با آهن، سروتونین، دوپامین و کروم موجود در سرم به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش پیدا کرده است و این امر در شرایطی بوده که حجم پراکسیداسیون لیپیدی مغز، آهن و روی سرم به صورت معنی داری افزایش یافت [۹]. بنابراین افزایش سطح آهن عامل پراکسیداسیون لیپید ها (افزایش استرس اکسیداتیو) [۹، ۲۹، ۳۸] می‌باشد و ممکن است باعث تسریع اکسیداسیون دوپامین و متعاقب آن تشکیل کوئینون[1] گردد [۹].

مشاهدات نشان می‌دهد، باند شدن سروتونین به پروتئین‌های باندشونده با آن به واسطه‌ی Fe^{+2} (ولی نه به واسطه‌ی Fe^{+3}) افزایش می‌یابد. همچنین مونوآمین ها پیوندهای کوردیناسیونی را با به دام انداختن آهن تشکیل داده و منجر به تغییر شارژ عملکردهای پروتئین‌های باندشونده با سروتونین می‌شوند. این یافته ها نشان می‌دهد که استرس اکسیداتیو القا شده به وسیله‌ی آهن به شکل مضری نوروترانسمیترها را تحت تأثیر قرار داده و ممکن است منجر به نورودژنراسیون گردد [۹، ۱۷].

بر طبق این مطالب اختلال در سطح نوروترانسمیترهایی مانند سروتونین و دوپامین و متابولیت های اکسید شده‌شان ممکن است با اختلالات نورودژنراتیو همراه باشد [۲، ۸].

با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق بنظر می‌رسد نانو ذرات اکسید آهن باعث تخریب حافظه احترازی غیر فعال شده و بر اساس گزارش‌های حاصل از مطالعات قبلی پیشنهاد می‌شود که اختلال در حافظه احتمالاً بخشی به دلیل اختلال در سیستم‌های نوروترانسمیتری (سروتونرژیک و دوپامینرژیک و...) در بعضی نواحی مغزی مرتبط با شکل گیری حافظه از جمله هیپوکامپ باشد و بخشی دیگر مربوط به اندازه ذرات داروهای مذکور باشد که در این راستا نانو ذرات اکسید آهن نسبت به اکسید آهن توده ای بدلیل ویژگیهای فیزیکوشیمیایی خاص خود اثرات وسیع‌تری را ایجاد می‌نمایند.

سپاسگزاری

این پژوهش بخشی از پایان نامه بوده و با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز بصورت گرانت (شماره ۹۰/۰۲/۱۸۶۷۲) انجام پذیرفته است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

1. Quinone

Archive of SID
www.SID.ir

References

[1] Batra J, Seth PK, Effect of iron deficiency on developing rat brain. ***Indian J Clin Biochem*** 17 (2002) 108-114.

[2] Beard JL, Iron Biology in Immune Function, Muscle Metabolismand Neuronal Functioning. ***J Nutr*** 131 (2001) 568-579.

[3] Burke WJ, Lis W, Chung HD, Ruggiero DA, Kristal BS, Johnson EM, Lampe p, Kumar VB, Franko M, Williams EA, Zahm DS, Neurotoxicity of catecholamine neurotransmitters: role in neurodegenerative diseases. ***Neurotoxicology*** 25 (2004) 101-115.

[4] Cengelli F, Maysinger D, Tschudi-Monnet F, Montet X, Corot C, Petri-Fink A, Hofmann H, Juillerat-Jeanneret L, Interaction of Functionalized Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles with Brain Structures. ***J Pharmacol Exp Ther*** 318 (2006) 108-116.

[5] Cornett CR, Markesbery WR, Ehmann WD, Imbalances of trace elements related to oxidative damage in Alzheimer's disease brain. ***Neurotoxicol*** 19 (1998) 339-345.

[6] De Lima MN, Laranja DC, Caldana F, Grazziotin MM, Garcia VA, Dal-Pizzol F, Bromberg E, Schröder N, Selegeline prptects recognition memory impairment induced by neonatal iron treatment. ***Exp Neurol*** 196 (2005) 177-183.

[7] De Lima MN, Presti-Torres J, Caldana F, Grazziotin MM, Scalco FS, Guimarães MR, Bromberg E, Franke SI, Henriques JA, Schröder N, Desferoxamine revers neonatal iron-induced recognition memory impairment in rat. ***Eur J Pharmacol*** 570 (2007) 111-114.

[8] de Lima MN, Presti-Torres J, Garcia VA, Guimarães MR, Scalco FS, Roesler R, Schröder N, Amelioration of recognition memory impairment associated with iron loading or aging the type 4-spesific phosphodiesteras inhibitor roliparm in rats. ***Neuropharmacology*** 55 (2008) 788-792.

[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*** 46 (2008) 855-858.

[10] Faraji AH, Wipf P, Nanoparticles in cellular drug delivery. ***Bioorg Med Chem*** 17 (2009) 2950–2962.

[11] Garick MD, Garick LM, Cellular iron transport. ***Biochim Biophys Acta*** 1790 (2009) 309-325.

[12] Georgieff MK, The role of iron in neurodevelopment: fetal iron deficiency and the developing hippocampus. ***Biochem Soc Trans*** 36 (2008) 1267-1271.

[13] Gotz ME, Double K, Gerlach M, Youdim MBH, Riiederere P, The relevance of iron in the pathogenesis of Parkinsons disease. Redox-active metals in neurological disorders. ***Ann N Y Acad Sci*** 1012 (2004) 193-208.

[14] Hentze MW, Muckenthaler MU, Andrews NC, Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. ***Cell*** 117 (2004) 285-297.

[15] Hoet PH, Brüske-Hohlfeld I, Salata OV, Nanoparticles - known and unknown health risks. ***J Nanobiotechnology*** 2 (2004) 1-15.

[16] Jellen LC, Beard JL, Jones BC, Systems genetic analysis of iron regulation in the brain, ***Biochimie*** 91 (2009) 1255-1259.

[17] Jimenez Del Rio M, Velez Pardo C, Pinxteren J, De Potter W, Ebinger G, Vauquelin G, binding of serotonin and dopamine to serotonin binding proteins in bovine frontal cortex: evidence for iron-indued oxidative mechanisems, interaction with serotonin and catecholamines. ***Eur J Pharmacol*** 274 (1993) 11-21.

[18] Jitianu M, Goia DV, Zinc oxide colloids with controlled size, shape, and structure. J Colloid Interface ***Sci*** 309 (2007) 78- 85.

[19] Khajehpour L, Rezayof A, Zarrindast MR, Involvement of dorsal hippocampal nicotinic receptors in the effect of morphine on memory retrieval in passive avoidance task, ***Eur J Pharmacol*** 584 (2008) 343–351.

[20] Konoha K, Sadakane Y, Kawahara M, Zinc neurotoxicity and its role in neurodegenerative disease. ***J Health Sci*** 52 (2006) 1-8.

[21] Korczynski RE, Occupational health concerns in the welding industry. ***Appl Occup Environ Hyg*** 15 (2000) 936–945.

[22] Maaroufi K, Ammari M, Jeljeli M, Roy V, Sakly M, Abdelmelek H, Impairment of emotional behavior and spatial learning in adult wistar rats by ferrous sulfate. ***Physiol Behav*** (2009) 343-349.

[23] Moos T, Morgan EH, The metabolism of neuronal iron and its pathogenic role in neurological disease: Review.

Archive of SID
www.SID.ir

Ann N Y Acad Sci 1012 (2004) 14-26.

[24] Murray-Kolb LE, Beard JL, Iron treatment normalizes cognitive functioning in young women. ***Am J Clin Nutr*** 85 (2007) 778-787.

[25] Nations S, Wages M, Jaclyn E, Maul J, Theodorakis C, Cobb GP, Acute effects of Fe2O3, TiO2, ZnO and CuO nano materials on Xenopus laevis. ***Chemosphere*** 83 (2011) 1053–1061.

[26] Nel A, Xia T, Madler L, Li N, Toxic potential of materials at the Nanolevel ***Sci*** 311 (2006) 622-627.

[27] Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J, Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. ***Environ Health Perspect*** 113 (2005) 823–839.

[28] Otero GA, Pliego-Rivero FB, Contreras G, Ricardo J, Fernández T, Iron supplementation brings up P300 in iron deficiency children. ***Clin Neurophysiol*** 115 (2004) 2259-2266.

[29] Ponka P, Hereditary causes of disturbed iron homeostasis in the central nervous system. ***Ann N Y Acad Sci*** 1012 (2004) 267-281.

[30] Samal NK, Paulraj R. Combined role of magnetic iron oxide nanoparticles and 2.45 GHz microwave radiation on antioxidant enzymes of mice. ***ICEAA*** (2010) 313-316.

[31] Santhakumar V, Wallner M, Otis TS, Ethanol acts directly on extrasynaptic subtypes of GABAA receptors to increase tonic inhibition. ***Alcohol*** 41 (2007) 211–221.

[32] Schröder N, Fredriksson A, Vianna MR, Roesler R, Izquierdo I, Archer T, Memory deficts in adult rats following postnatal iron administration. ***Behav Brain Res*** 124 (2001) 77-85.

[33] Schwarting R, Huston JP, dopamine and serotonin metabolism in brain site ipsi-and contralateral to direction of conditioned turning in rats. ***J neurochem*** 48 (1987) 1473-1479.

[34] Sharma V, Shukla RK, Saxena N, Parmar D, Das M, Dhawan A, DNA damaging potential of zinc oxide nanoparticles in human epidermal cells. ***Toxicol Lett*** 185 (2009) 211-218.

[35] Thorek DLJ, Chen AK, Czupryna J, Tsourkas A, Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticle Probes for Molecular Imaging. ***Ann Biomed Eng*** 34 (2006) 23-38.

[36] Tsuji JS, Maynard AD, Howard PC, James JT, Lam CW, Warheit DB, Santamaria AB, Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, Part IV: risk assessment of nanoparticles. ***Toxicol Sci*** 89 (2006) 42–50.

[37] Velez-Pardo C, Del Rio MJ, Ebinger G, Vauquelin G, Monoamine and Iron-Related Toxicity: From "Serotonin-Binding Proteins" to Lipid Peroxidation and Apoptosis in PC12 Cells. ***Gen Pharmacol*** 31 (1998) 19–24.

[38] Velez-Pardo C, Jimenez Del Rio M, Verschueren H, Ebinger G, Vauquelin G, Dopamine and iron induce apoptosis in PC12 cells. ***Pharmacol Toxicol*** 80 (1997) 76-84.

[39] Walker BL, Tiong JW, Jefferies WA, Iron metabolism in mammalian cell. ***Int Rev Cytol*** 211 (2001) 241-278.

[40] Wang B, Feng W, Zhu M, Wang Y, Wang M, Gu Y, Ouyang H, Wang H, Li M, Zhao Y, Neurotoxicity of low-dose repeatedly intranasal instillation of nano- and submicron-sized ferric oxide particles in mice. ***J Nanopart Res*** 11 (2009) 41-53.

[41] Wang B, Feng WY, Wang M, Shi JW, Zhang F, Ouyang H, Zhao YL, Chai ZF, Huang YY, Xie YN, Wang HF, Wang J, Transport of intranasally instilled fine Fe2O3 particles into the brain: micro-distribution, chemical states, and histopathological observation. ***Biol Trace Elem Res*** 118 (2007) 233-243.

[42] Wang B, Wang Y, Feng W, Zhu M, Wang M, Ouyang H, Wang H, Li M, Zhao Y, Chai Z, Trace Metal Disturbance in Mice Brain after Intranasal Exposure of Nano- and Submicron-Sized Fe2O3 Particles. ***Chem Anal*** (Warsaw, pol) 53 (2008) 927-942.

[43] Wang Y, Wang B, Zhu MT, Li M, Wang HJ, Wang M, Ouyang H, Chai ZF, Feng WY, Zhao YL, Microglial activation, recruitment and phagocytosis as linked phenomena in ferric oxide nanoparticle exposure. ***Toxicol Lett*** 205 (2011) 26-37.

[44] Wu LJ, Leenders AG, Cooperman S, Meyron-Holtz E, Smith S, Land W, Tsai RY, Berger UV, Sheng ZH, Rouault TA. Expression of the iron transporter ferroprotin in synaptic vesicle and the blood-brain-barrier. ***Brain Res*** 1001 (2004) 108-117.

[45] Zheng W, Aschner M, Ghersi-Egea JF, Brain barrier systems: a new frontier in metal neurotoxicological research. ***Toxicol Appl Pharmacol*** 192 (2003) 1-11.

Archive of SID

www.SID.ir