Original Article

Oxidative stress indices in rat hippocampus using the memory deficit model induced by zinc oxide nanoparticles

Valipour-Chahardah-Charic S[1,2*], Kesmati M[3], Vahdati A[2], Hoseiny SE[2]

1- Department of Biology, Faculty of Sciences, Fars Science and Research Branch, Islamic Azad University, Fars, I. R. Iran.
2- Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, I. R. Iran.
3- Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University, Ahvaz, I. R. Iran.

Received November 16, 2014; Accepted February 19, 2015

Abstract:

Background: Some beneficial effects of zinc oxide nanoparticles (nano ZnO) in medicine have been widely considered in the food and pharmaceutical industries. Despite its beneficial effects and the contradictory oxidant and antioxidant properties of these nano ZnO on cognitive and memory processes, a challenge would be on the medicinal application of these nanoparticles. This study aimed to evaluate the parameters of hippocampal oxidative stress in memory deficits induced by nano ZnO.

Materials and Methods: In this study, 28 adult male Wistar rats (200-250g) were allocated into 4 groups (n=7): control (Saline injection) and three experimental groups with different doses of ZnO (1.25, 2.5 and 5 mg/kg). Long-term memory in an inhibitory avoidance paradigm was examined at one day after the treatment and training. The
(MDA) level as an index of lipid peroxidation and the total thiols (- SH) were evaluated using the biochemical analysis of the hippocampus.

Results: Nano ZnO at 1.25, 5 and also 2.5 mg/kg resulted in the impairment of memory ($P<0.001$ and $P<0.01$, respectively) with no change in the locomotor activity; a decrease in thiols levels in groups received the higher doses of nano ZnO (2.5 and 5 mg/kg) and an increase in the thiols levels in groups that received the highest dose of nano ZnO wereseen ($P<0.001$).

Conclusion: It can be concluded that memory impairment induced by nano ZnO in rats may not be attributed to the effects of oxidative stress in the hippocampus.

Keywords: Nano zinc oxide, Avoidance memory, Oxidative stress, Rat

* **Corresponding Author.**
Email: valipoursaeed@gmail.com
Tel: 0098 916 691 3247
Fax: 0098 614 358 4523

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2015; Vol. 19, No 1, Pages 38-46

Please cite this article as: Valipour-Chahardah-Charic S, Kesmati M, Vahdati A, Hoseiny SE. Oxidative stress indices in rat hippocampus using the memory deficit model induced by zinc oxide nanoparticles. ***Feyz*** 2015; 19(1): 38-46.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-24]

بررسی میزان شاخص‌های استرس اکسیداتیو ناحیه هیپوکامپ در نقص حافظه ناشی از نانو ذرات اکسید روی در موش صحرایی نر

سعید ولی‌پور چهارده‌چریک [۱و۲*]، مهناز کسمتی [۳]، اکبر وحدتی [۴]، سید ابراهیم حسینی [۵]

خلاصه:

سابقه و هدف: برخی اثرات مفید نانو ذرات اکسید روی (nano ZnO) باعث توجه گسترده به استفاده از آن در صنایع غذایی و دارویی شده است. علی‌رغم اثرات سودمند، خاصیت دوگانه اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدانی این نانو ذره بر پدیده‌های شناختی و حافظه، کاملا روشن نبوده و چالشی بزرگ بر سر راه کاربرد دارویی آن به‌وجود خواهد آورد. این تحقیق به‌منظور بررسی میزان و رابطه شاخص‌های استرس اکسیداتیو ناحیه هیپوکامپ با نقص حافظه ناشی از نانو ذرات اکسید روی طراحی و اجرا شده است.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (۲۵۰-۲۰۰gr) به چهار گروه (n=۷): ۱) سالین (شاهد تزریق)، ۲، ۳ و۴) دریافت کننده نانو اکسید روی (۱/۲۵ mg/kg، ۲/۵ و ۵؛ به‌ترتیب) تقسیم شدند. حافظه دراز مدت در مدل یادگیری اجتنابی غیرفعال در موش‌ها یک روز پس از دریافت دارو و آموزش بررسی شد. ارزیابی میزان MDA به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی و مجموع گروه‌های تیول (SH-) پس از جدا کردن هیپوکامپ از مغز موش‌های صحرایی به‌روش بیوشیمیایی صورت گرفت.

نتایج: نانواکسید روی بدون تغییر در فعالیت حرکتی، به‌طور معنی‌دار [دوزهای ۱/۲۵ و ۵ ($P<۰/۰۰۱$) و ۲/۵ ($P<۰/۰۱$)] سبب تخریب حافظه، کاهش معنی‌دار ($P<۰/۰۰۱$) در میزان MDA در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای بالاتر (۲/۵ mg/kg و ۵) و هم‌چنین افزایش معنی‌دار ($P<۰/۰۰۱$) در میزان گروه‌های تیول در دوز بالای نانو اکسید روی (۵mg/kg) نسبت به گروه سالین شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این تحقیق، نانو ذرات اکسید روی با کاهش MDA و افزایش گروه‌های تیول در هیپوکامپ، اثرات آنتی-اکسیدانی نشان داده و به‌نظر می‌رسد این اثر نمی‌تواند توجیه کننده اختلال حافظه ناشی از آن باشد.

واژگان کلیدی: نانو اکسیدروی، حافظه اجتنابی، استرس اکسیداتیو، موش صحرایی

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره نوزدهم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۴، صفحات ۴۶-۳۸

مقدمه

نانو ذرات اکسید روی یکی از پرکاربردترین نانو ذره‌ای است که در حوزه صنعت، پزشکی، و تغذیه موارد استفاده زیادی دارد [۱]. این نانو ذره به‌خوبی می‌تواند از سد خون و مغز بگذرد. اما تاکنون موارد اندکی از اثرات ایجاد شده به‌وسیله نانواکسید روی بر روی CNS شناخته شده است [۲]. برخی مطالعات حاکی از اثرات مفید این ترکیبات می‌باشد؛ به‌طوری‌که تجویز حاد نانو اکسید روی اثر ضد اضطرابی قابل توجهی را نسبت به نوع معمولی آن در مدل‌های حیوانی نشان می‌دهد [۳].

[۱] دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد علوم و تحقیقات فارس، دانشگاه آزاداسلامی، فارس

[۲] دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز

[۳] دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

[۴] استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز

[۵] دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز

* **نشانی نویسنده مسئول:**
شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، گروه زیست شناسی

تلفن: ۰۹۱۶ ۶۹۱۳۲۴۷ **دورنویس:** ۰۶۱۴۳۵۸۴۵۲۳

پست الکترونیک: valipoursaeed@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۲۵ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۳/۱۱/۳۰

هم‌چنین، مصرف مزمن نانو اکسید روی نسبت به نوع معمولی اثر ضد دردی قابل ملاحظه‌ای را در حضور و غیاب فعالیت ورزشی هوازی در موش‌های نر اعمال می‌کند [۴] که این امر می‌تواند رویکرد جدیدی را در درمان‌های بیماری‌های مرتبط فراهم نماید. هم‌چنین، مشخص شده است که تزریق مزمن نانواکسید روی در موش‌های صحرایی باعث افزایش LTP در هیپوکامپ می‌شود [۵]. LTP یکی از شاخص‌های مهم شکل‌گیری حافظه است که افزایش آن نشان‌دهنده نقش مثبت این نانو ذره در تقویت حافظه می‌باشد. از سوی دیگر، نتایج حاصل از کاربرد حاد نانو ذرات اکسید روی سبب کاهش قابل توجه در میزان بازیابی حافظه دراز مدت در مدل یادگیری اجتنابی غیرفعال در موش‌های صحرایی شده است [۷،۶]. در این رابطه پیشنهاد شده است که اثر بلوک کنندگی یون روی بر گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی نقش مهمی دارند [۶]. هم‌چنین، مطالعات درون‌تنی بر روی نورون‌های هرمی هیپوکامپ موش های صحرایی نشان داده است که افزایش داخل سلولی گونه‌های اکسیژنه واکنشی (ROS) یکی از مکانیسم‌های بالقوه آپوپتوز سلولی ناشی از نانو اکسید روی می‌باشد و نقص در عملکرد هیپوکامپ می‌تواند تخریب حافظه را به‌دنبال داشته باشد [۹،۸]. در این رابطه پیشنهاد شده است که نانو اکسید روی، می-

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-24]

تواند سبب افزایش سطح سیتوزولی کلسیم شود، که این امر می‌تواند تولید ROS درون سلولی، و به‌دنبال آن پیشرفت آپوپتوز نورونی را در این ناحیه افزایش دهد [۱۰]. عنصر روی یکی از اجزای مهم نانو ذرات اکسید روی است که برخی مطالعات اثرات آنتی‌اکسیدانی آن را به‌خوبی نشان داده‌اند [۱۱]. از سوی دیگر، عنصر روی بر گیرنده‌های سیستم عصبی دخیل در حافظه مانند بعضی از گیرنده‌های گلوتاماتی نظیر NMDA و هم‌چنین گابا اثر-گذار می‌باشد [۱۳،۱۲]. این اثرات به‌صورت مهار گیرنده‌های گلوتاماتی و تعامل با گیرنده‌های دیگر بروز می‌نماید. از این‌رو، در برخی فرآیندهای فیزیولوژیک مانند اضطراب، در تجویزهای درون‌تنی نانو ذرات اکسید روی شبیه سایر ترکیبات از جمله کلرید روی عمل می‌کنند [۳]. بدین ترتیب به‌نظر می‌رسد روی جدا شده از ترکیباتی مانند نانو اکسید روی و یا کلرید روی مسئول ایجاد تغییر در فرایندهای فیزیولوژیک باشند. لذا، نانو اکسید روی می‌تواند دارای اثرات دو یا چندگانه‌ای باشد که غیر از اثرات گیرندگی آن خاصیت اکسیداتیوی و آنتی‌اکسیدانی آن در کاربرد درون بدنی قابل بررسی و ضروری می‌نماید. معمولا یک جنبه مخرب واکنش‌های استرس اکسیداتیو، تولید ROS است که شامل رادیکال‌های آزاد و پراکسیدها می‌باشد و کاهش آنها سبب افزایش طول عمر می‌شود [۱۴]. اختلالات ایجاد شده در حالت اکسید-اسیون از عوارض ناشی از تولید پراکسیدها و رادیکال‌های آزاد می‌باشد که موجب آسیب اجزای سلولی از جمله پروتئین‌ها، لیپیدها، و DNA می‌شود [۱۶،۱۵]. پراکسیداسیون لیپید به تخریب اکسیداتیو لیپیدها اشاره دارد. ROS لیپیدهای غیر اشباع را کاهش داده و مالون دی‌آلدئید (MDA) تشکیل می‌دهد. مالون دی‌آلدئید ترکیب ارگانیک با فرمول $CH_2(CHO)_2$، یک آلدئید واکنشی است که به‌عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپید معرفی می‌شوند [۱۷]. گروه‌های تیول (SH-) نیز نسبت به آسیب‌های اکسیداتیو حساس هستند و کاهش آنها نشانهٔ مهمی از استرس اکسیداتیو است [۱۸]. با توجه به تناقضاتی که در خصوص اثرات نانو ذرات اکسید روی بر رفتار و ساختارهای عصبی مربوط به حافظه در تجویزهای داخل و خارج بدنی مشاهده شده است، هم‌چنین مشاهده اثرات اکسیداتیو و آنتی-اکسیدانی در این نانو ذره، بررسی اثر و مکانیسم آن در شرایط تجویز داخل بدنی بر حافظه ضروری می‌نماید. لذا، هدف از این تحقیق بررسی میزان شاخص‌های استرس اکسیداتیو ناحیه هیپوکامپ در نقص حافظه ناشی از نانو ذرات اکسید روی در موش‌های صحرایی نر بوده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰- ۲۰۰ گرم تهیه شده از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز استفاده شد. حیوانات در اتاق مخصوص حیوانات با شرایط استاندارد با دمای ۲±۲۲ سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰-۵۵ درصد نگهداری شدند. در هر قفس چهار حیوان نگهداری شده و چرخه ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی به‌همراه آب و غذای کافی برای آنها رعایت گردید. قبل از شروع آزمایش‌ها به‌منظور آشنایی با محیط آزمایشگاه، موش‌ها در قفس‌های جداگانه و به‌مدت ۱هفته نگهداری شدند. سپس، حیوانات به‌طور تصادفی به‌صورت زیر تقسیم شدند: ۱) گروه دریافت‌کننده سالین (شاهد تزریق) (n=۷): فقط ml/kg ۱۰ سالین را دریافت کرده و آموزش دیدند. یک روز بعد از تزریق، ابتدا حافظه ۲۴ ساعته و فعالیت حرکتی بررسی شد و سپس مورد ارزیابی شاخص‌های استرس اکسیداتیو قرار گرفتند؛ ۲) سه گروه دریافت کننده نانو ذرات اکسید روی (n=۷) با مقادیر ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ mg/kg که پس از دریافت دارو و آموزش، یک روز بعد ابتدا حافظه ۲۴ ساعته و فعالیت حرکتی آنها بررسی شد و سپس مورد ارزیابی شاخص‌های استرس اکسیداتیو قرار گرفتند. کلیه آزمایشات بر روی موش‌های صحرایی بر اساس منشور اخلاق پژوهش مصوب معاونت پژوهش و فن‌آوری دانشگاه آزاد اسلامی انجام شد. نانو اکسید روی (nano ZnO) تولید شرکت لولیتک آلمان با اندازه ۸۰-۵۰ نانومتر به‌میزان مورد نیاز روزانه قبل از شروع آزمایش به‌مدت ۱۵ دقیقه توسط دستگاه حمام اولتراسونیک در سالین ۰/۹ درصد پراکنده شده و قبل از هر بار تزریق ترکیب مجددا به‌مدت ۱ دقیقه توسط دستگاه شیکر نیز پراکنده گردید [۴]. داروها به‌صورت درون صفاقی و تک دوز تزریق شدند [۱۹].

ارزیابی حافظه ۲۴ ساعته در موش‌های صحرایی:

در این ارزیابی از دستگاه Step down با ابعاد جعبه ۴۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر استفاده شد. جعبه با ارتفاع ۱۵ cm از سطح زمین دارای کف میله‌ای از جنس استیل زنگ نزن با قطر ۱mm و فاصله بین آنها ۱۰mm است. سکوی چوبی با ابعاد ۲/۵×۷×۲۷ سانتی‌متر در مرکز کف میله‌ای قرار می‌گیرد. آزمایش درون اتاق نسبتاً تاریک انجام می‌شود. فضای درون جعبه در طی آزمایش توسط یک لامپ ۱۵ واتی روشن است. هر موش یک روز قبل از یادگیری به‌مدت ۵ دقیقه به‌منظور آشنایی با ابزار آزمایش درون جعبه قرار گرفت. در زمان یادگیری، موش درون استوانه پلاستیکی روی سکوی چوبی قرار گرفت. ۱۰ ثانیه بعد استوانه پلاستیکی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-24]

برداشته شده و زمان تاخیر پایین آمدن از سکوی چوبی ثبت شد. بلا فاصله پس از پایین آمدن هر چهار دست و پای موش صحرایی از سکوی چوبی شوک الکتریکی ۰/۵ mA را برای مدت ۳ ثانیه از طریق کف میله‌ای دریافت کرد. سپس، موش به قفس برگردانده شد. روز بعد (فاصله زمانی به‌یاد آوردن ۲۴ ساعته) موش صحرایی مجددا روی سکو، درون استوانه پلاستیکی قرار گرفت و پس از ۱۰ ثانیه استوانه پلاستیکی برداشته شد و زمان تاخیرپایین آمدن از سکو ثبت گردید. البته در روزهای به‌یاد آوری شوک الکتریکی اعمال نشد. موش‌هایی که برای مدت زمان بیش از ۵ دقیقه در طی تست روی سکو می‌ماندند، حداکثر نمره ۳۰۰ ثانیه به آن داده شد. نتایج حاصل برحسب ثانیه در هر جلسه حافظه برای هر موش، از فرمول $L0$ Inflection Ratio(IR)=($L1$-$L0$)/ به‌عنوان شاخص تاخیر پایین آمدن از سکوی امن محاسبه گردید که در آن L0 زمان تاخیر اولیه‌ی پایین آمدن از سکو در روز یادگیری و L1 زمان تاخیر پایین آمدن از سکو در روز تست حافظه است [۲۰]. آزمون جعبه باز (Open field) برای بررسی فعالیت‌های حرکتی در حیوان مورد استفاده قرار گرفت؛ یک آزمون تکمیلی برای اطمینان از اینکه زمان تاخیر پایین آمدن از سکوی امن، ناشی از اختلال حرکتی در حیوان نیست. تجهیزات این آزمایش شامل یک صفحه چهارگوش ساخته شده از چوب با ابعاد ۷۲×۷۲cm با دیواره به ارتفاع ۳۶ cm است که کف این جعبه با خطوطی به ۱۶ مربع مساوی تقسیم شده است. در ابتدا هر موش در مرکز صفحه قرار داده شد و تعداد دفعات عبور از خطوط به‌عنوان شاخص فعالیت حرکتی، برای ۵ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. در انتهای آزمون، هر موش از جعبه باز برداشته شده و محفظه آزمایش به‌طور کامل با یک پارچه مرطوب پاک و سپس خشک گردید [۲۱].

ارزیابی بیوشیمیایی استرس اکسیداتیو

برای بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو، حیوانات پس از ارزیابی حافظه و فعالیت حرکتی، آسان‌کشی شدند. سپس، مغز آنها خارج گردید و هیپوکامپ پس از استخراج، مورد ارزیابی بیوشیمیایی قرار گرفت. میزان MDA بر پایه واکنش با تیوباربیتوریک اسید (TBARS) اندازه‌گیری شد. MDA یک شاخص LPO (Lipid peroxidation) است که به‌وسیله رادیکال‌های آزاد تولید می‌گردد. MDA با TBA واکنش می‌دهد و تولید یک کمپلکس قرمز رنگ می‌کند که حداکثر جذب را در طول موج ۵۳۲ نانومتر دارد. ۳ میلی‌لیتر اسید فسفریک (۱ درصد) و ۱ میلی‌لیتر TBA (۰/۶ درصد) به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هموژن در یک لوله سانتریفیوژ اضافه شد و مخلوط به‌مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده شد. پس از خنک شدن، ۴ میلی‌لیتر n-بوتانول به مخلوط اضافه گردید و مخلوط به‌مدت ۱ دقیقه گردانده شده (بهم زدن) و در ۲۰۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد. لایه رنگی به یک لوله تازه منتقل شده و جذب آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. سطح TBARS با استفاده از ۱،۱،۳،۳- تترا متوکسی پروپان به عنوان استاندارد، تعیین می‌گردد. منحنی استاندارد MDA نیز تهیه شد [۲۲]. برای رسم منحنی استاندارد، لازم است محلول استاندارد MDA تهیه شده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، جذب نوری اندازه‌گیری گردد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول استاندارد تترامتوکسی پروپان با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ میکرومولار برداشته شده، سپس ۳ میلی‌لیتر محلول ۱ درصد اسید فسفریک اضافه گردید. بقیه مراحل هم‌چون مراحل سنجش MDA انجام گرفت [۲۳].

روش سنجش میزان گروه‌های تیول (SH-)

مجموع گروه‌های تیول با استفاده از DTNB (معرف المن) به‌عنوان معرف، اندازه‌گیری شدند. این معرف با گروه‌های SH برای تولید یک مجموعه زرد رنگی که حداکثر جذب در طول موج ۴۱۲ نانومتر دارد واکنش می‌دهد. ۱ میلی‌لیتر بافر Tris- EDTA (pH=۸/۶) به ۵۰ میکرولیتر هموژن اضافه شده و جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۲ نانومتر در مقابل بافر Tris- EDTA به‌تنهایی خوانده شد (A1). سپس، ۲۰ میکرولیتر معرف DTNB (۱۰ میلی‌مول در متانول) به مخلوط اضافه شده و بعد از ۱۵ دقیقه (نگهداری در دمای اتاق) جذب نمونه دوباره خوانده شد (A2). جذب معرف DTNB هم‌چنین به‌عنوان یک بلانک (B) خوانده شد. مجموع غلظت تیول (میلی مول) از معادله زیر محاسبه گردید [۲۲]: مجموع غلظت تیول (میلی‌مول) = (A2- A1-B) ×1.07/0.05×13.6

آنالیز آماری

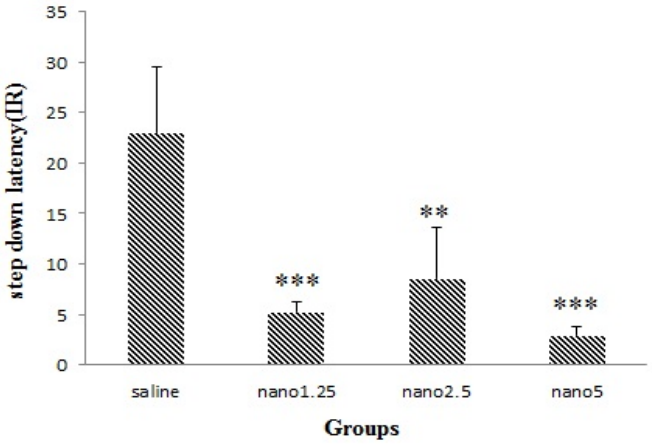
داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای معیار از میانگین (Mean±SEM) بیان شده‌اند. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۱ تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی نتایج در گروه‌های مختلف از آزمون‌های ANOVA یک‌طرفه و پس آزمون LSD استفاده شده است. در تمام موارد اختلاف بین گروه‌ها با $P<۰/۰۵$ معنی‌دار محسوب شده است.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-24]

نتایج

ارزیابی حافظه طولانی در یادگیری اجتنابی غیر فعال توسط Step down

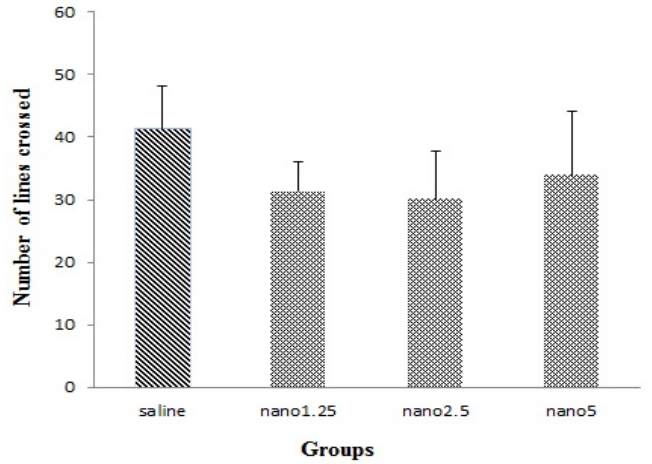
شکل شماره ۱ نسبت زمان تأخیر پایین آمدن از سکوی امن (step down latency) را ۲۴ ساعت پس از تجویز نانو اکسید روی در مقادیر ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ mg/kg و پس از آموزش را در مقایسه باهم و با سالین نشان می‌دهد. آنالیز آماری حاکی از کاهش معنی‌داری (*P<۰/۰۰۱) برای گروه‌های دریافت‌کننده ۱/۲۵ و ۵ mg/kg و برای گروه دریافت‌کننده ۲/۵ mg/kg (**P<۰/۰۱) [F(۹،۶۰)=۵/۰۷۹] نانو اکسید روی نسبت گروه دریافت‌کننده سالین در شاخص فوق می‌باشد؛ بدین ترتیب، یک‌بار تزریق نانو اکسید روی قادر به ایجاد اختلال در یادگیری اجتنابی غیر فعال (اکتساب) و فراخوانی حافظه ۲۴ ساعته است.**



شکل شماره ۱- مقایسه اثر تجویز مقادیر مختلف نانو اکسید روی (۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر نسبت زمان تأخیر پایین آمدن از سکوی امن (step down latency) در موش‌های صحرایی در فراخوانی حافظه طولانی مدت (۲۴ ساعت) نسبت به گروه دریافت‌کننده سالین (نشان*). nano = nano ZnO (mg/kg) . گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف نانو اکسید روی تفاوت معنی‌داری را نسبت به‌هم نشان ندادند.

ارزیابی فعالیت حرکتی در آزمون جعبه باز (open field)

شکل شماره ۲ تعداد دفعات عبور از خطوط در آزمون جعبه باز به‌عنوان شاخص فعالیت حرکتی در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده دوزهای مختلف نانو اکسید روی در مقایسه با یکدیگر و با گروه سالین را نشان می‌دهد. همان‌طور که در این نمودار ملاحظه می‌شود در تعداد دفعات عبور از خطوط در آزمون جعبه باز، هیچ‌یک از گروه‌ها نسبت به‌هم و هم‌چنین نسبت به گروه سالین تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهند؛ به‌عبارت دیگر داروهای مورد استفاده تغییری در فعالیت حرکتی موش‌ها ایجاد ننموده‌اند [F(۹،۶۰)= ۰/۷۷۷].

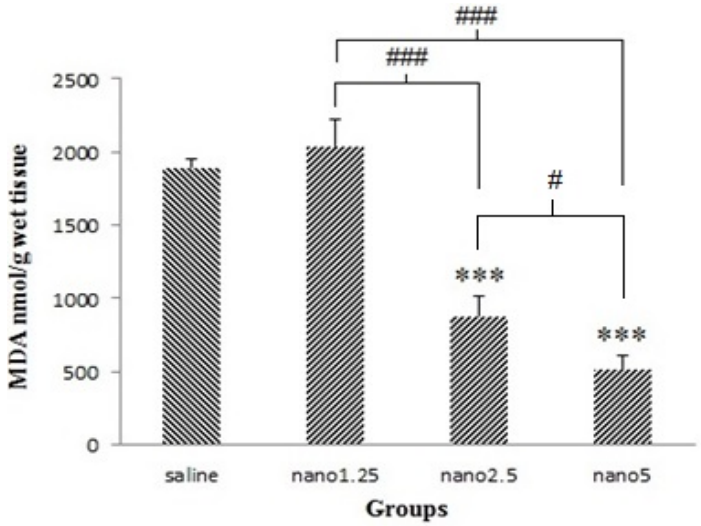


شکل شماره ۲- مقایسه تعداد دفعات عبور از خطوط در آزمون جعبه باز (open field) در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده سالین و گروه‌های دریافت کننده مقادیر مختلف نانو اکسید روی nano = nano ZnO (mg/kg). گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف نانو اکسید روی نیز در میزان فعالیت حرکتی نسبت به هم تفاوت معنی‌دار نشان ندادند.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-24]

ارزیابی بیوشیمیایی شاخص‌های استرس اکسیداتیو

شکل شماره ۳ میزان MDA به‌عنوان شاخص پراکسید-اسیون لیپیدی را در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف نانو اکسید روی و گروه دریافت‌کننده سالین نشان می‌دهد. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، میزان MDA در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای بالاتر (۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) از نانو اکسید روی به‌طور معنی‌داری نسبت به هم (#P<۰/۰۵) و نسبت به گروه دریافت‌کننده نانو اکسید روی ۱/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (###P<۰/۰۰۱) و هم‌چنین گروه سالین (*P<۰/۰۰۱) کاهش یافته است که نشان از اثر آنتی‌اکسیدانی این نانو ذره دارد [F(۹،۶۰)= ۱۸/۸۵].**



شکل شماره ۳- مقایسه میزان MDA به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف نانو اکسید روی (۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلو گرم) نسبت بهم (نشان#) و با گروه دریافت کننده سالین (نشان*) (nano = nano ZnO (mg/kg) .

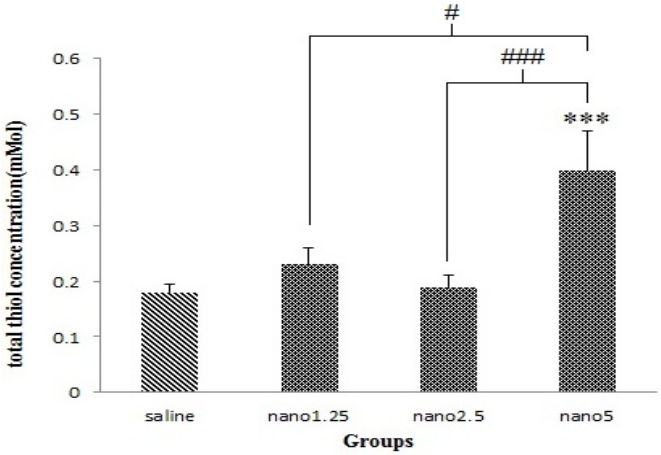
شکل شماره ۴ مقایسه میزان مجموع گروه‌های تیول (SH-) در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف نانو اکسید روی را با یکدیگر و با گروه دریافت‌کننده سالین نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود نتیجه آنالیز آماری نشان از افزایش معنی‌دار در میزان گروه‌های تیول در گروه دریافت‌کننده ۵ میلی‌گرم برکیلوگرم نانو اکسید روی نسبت به گروه سالین (*P<۰/۰۰۱) و نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده ۱/۲۵ میلی‌گرم (#P<۰/۰۵) و ۲/۵ میلی‌گرم (###P<۰/۰۰۱) از نانو اکسید روی دارد. [۶/۸۲۶ = F(۹،۶۰)] افزایش گروه‌های تیول در مقادیر بالای نانو اکسید روی حاکی از اثر آنتی‌اکسیدانی این ترکیب در هیپوکامپ می‌باشد.**

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تخریب حافظه ناشی از تجویز حاد نانو ذرات اکسید روی متاثر از فعالیت حرکتی نبوده است، ضمن آنکه باعث تغییر غلظت شاخص‌های استرس اکسیداتیو شده است؛ به‌طوری‌که با افزایش مقدار دارو میزان MDA به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده سالین کاهش یافته و مقدار مجموع گروه‌های تیول (SH-) افزایش معنی‌داری را نشان داد. بدین ترتیب نقص حافظه ناشی از نانو ذرات اکسید روی در این مطالعه احتمالا نمی‌تواند ناشی از اثرات اکسیداتیو این ترکیب باشد و بر خلاف انتظار این ترکیب با کاهش MDA و افزایش گروه‌های تیول، اثر آنتی‌اکسیدانی را در هیپوکامپ نشان داده است که با نتایج تحقیقات گذشته مبنی بر این که کمبود روی با بالاتر بودن سطح تخریب اکسیداتیو بافتی و هم‌چنین تشکیل ROS ارتباط دارد [۲۴]، مطابقت دارد. بنابراین می‌توانیم این فرض را داشته باشیم که اثرات آنتی اکسیدانی نانو ذرات اکسید روی در هیپوکامپ مانع از تخریب حافظه آن نشده است. در این رابطه چندین احتمال را می‌توان داد. با توجه به مطالعات قبلی یکی از دلایل احتمالی اثر تخریبی نانو اکسید روی بر حافظه می‌تواند مربوط به اندازه این ترکیب باشد. در برخی گزارش‌ها آمده است که ترکیبات با اندازه نانو می‌توانند به مغز برسند و ممکن است با بیماری‌های نورو-دژنراتیو ارتباط داشته باشند [۲۶،۲۵]. در این رابطه مکانیسم دقیقی عنوان نشده است. از سوی دیگر در بررسی اثرات نانو ذرات

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-24]

اکسید روی بر سلول‌های بنیادی عصبی کشت شده، القاء آپوپتوز و کاهش بقاء سلول را نشان داده است.



شکل شماره ۴- مقایسه میزان مجموع گروه‌های تیول (SH-) در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف نانو اکسید روی با یکدیگر (#) و با گروه دریافت‌کننده سالین (*)(nano = nano ZnO (mg/kg). گروه‌های ۱/۲۵ میلی‌گرم و ۲/۵ میلی‌گرم نانو اکسید روی تفاوت معنی‌داری را نسبت بهم نشان ندادند.

از ویژگی‌های نانو اکسید روی، تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) و آسیب غشایی احتمالی ناشی از آن می‌باشد [۲۷]. در مقابل نتایج حاصل از مطالعه اثر این نانو ذره بر حافظه در حضور ویتامین C به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان نشان داده است که ویتامین C به‌عنوان یکی از آنتی‌اکسیدان‌های موجود در مغز نمی‌تواند نقص حافظه ایجاد شده را بهبود بخشد [۷] که نتایج حاصل از این تحقیق مبنی بر عدم دخالت اثرات استرس اکسیداتیو نانو اکسید روی بر حافظه را تایید می‌کند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که قرار گرفتن در معرض غلظت پایین نانو اکسید روی سبب ایجاد ژنوتوکسیک ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو در سلول‌های اپیدرمی می‌شود [۲۸] که بر خلاف این نتایج، یافته‌های تحقیق حاضر اثرات آنتی‌اکسیدانی را برای دوزهای بالاتر نانو اکسید روی در هیپوکامپ مغز موش‌های صحرایی نشان می‌دهند که با مطالعات انجام شده بر روی فعالیت محافظت‌کنندگی نانو اکسید روی بر غشا سلولی و مهار پراکسیداسیون لیپیدی مطابقت دارد [۲۹]. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و تحقیق انجام شده بر روی حافظه در حضور ویتامین C که پیش‌تر به آن اشاره شد، به‌نظر می‌رسد اثر تضعیف‌کنندگی نانو ذرات اکسید روی بر حافظه اجتنابی دارای دلایلی غیر از اثرات استرس اکسیداتیو این نانو ذرات باشد. نکته قابل تامل آنکه یون روی آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA گلوتاماتی است [۶] و مشخص شده است فعالیت این گیرنده‌ها در شکل‌گیری LTP و حافظه نقش اساسی دارد [۳۰].

بدیهی است روی (Zn^{2+}) آزاد شده از نانو ذرات اکسید روی نیز می‌تواند از فعالیت گیرنده‌های NMDA کاسته و حافظه را دچار اختلال کند که با نتایج این مطالعه هم‌خوانی دارد. ولی از آنجا که در این تحقیق اثر نانو اکسید روی در حضور آنتاگونیست‌های اختصاصی گیرنده‌های NMDA بر حافظه مورد بررسی قرار نگرفته است و شاید به‌عنوان کاستی تحقیق محسوب گردد، لذا بررسی دقیق مکانیسم اثر این نانو ذره در حضور عوامل موثر بر گیرنده‌های فوق بر حافظه پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه‌گیری

به‌عنوان نتیجه کلی باید گفت نانو ذرات اکسید روی در هیپوکامپ اثرات آنتی‌اکسیدانی اعمال نموده است و احتمالا نقص حافظه ناشی از این نانو ذره نمی‌تواند مربوط به اثرات اکسیداتیو آن باشد. به‌نظر می‌رسد تخریب حافظه ناشی از این ترکیب را باید در اثرات بلوک‌کنندگی عنصر روی بر گیرنده‌های سیستم‌های نوروشیمیایی موثر در حافظه مانند NMDA جستجو نمود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق بخشی از رساله دکتری می‌باشد و از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه که شرایط مناسب برای انجام این کار پژوهشی را فراهم نمودند، قدردانی به‌عمل می‌آید.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-24]

References:

[1] Emamifar A, Kadivar M, Shahedi M, Solaimanianzad S. Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on the shelf life of fresh orange juice. ***Innovative Food Sci Emerging Technol*** 2010; 11(4): 742–8.

[2] Xia Zh, Zhuo Y. Influences of Nanoparticle Zinc Oxide in the Electrophysiological Properties of Hippocampal Neurons and the Mechanism of the Biological Effects on PC12 Cells. ***Nankai Univ Zool*** 2010.

[3] Torabi M, Kesmati M, Harooni HE, Varzi HN. Effect of Nano and Conventional ZnO on Anxiety-Like Behaviour in Male Rats. ***Indian J Pharmacol*** 2013; 45(5): 508-12.

[4] Kesmati M, Torabi M, Malekshahinia H, Teymurizamaneh H. Effect of chronic administration of zinc supplements (ZnO and nano ZnO) with and without aerobic exercise on nociception in male rats. ***Physiol Pharmacol*** 2013; 16(4): 415-22.

[5] Han D, Tian Y, Zhang T, Ren G, Yang Zh. Nano-zinc oxide damages spatial cognition capability via over-enhanced long-term potentiation in hippocampus of Wistar rats. ***International J Nanomedicine*** 2011; 6: 1453–61.

[6] Zito K, Scheuss V. NMDA Receptor Function and Physiological Modulation. ***Elsevier*** 2009.

[7] Valipour Chahardah charic S, Kesmati M, Vahdati A, Hoseini S.E. The effects of acute administration of zinc oxide nanoparticles on long term memory in the presence and absence of vitamin C in adult male rat. ***Advances Environmental Biol*** 2014; 8(13): 260-6.

[8] Spiers HJ, Maguire EA, Burgess N. Hippocampal amnesia. ***Neurocas*** 2001; 7(5): 357–82.

[9] Stark CE, Squire LR. Hippocampal Damage Equally Impairs Memory for Single Items and Memory for Conjunctions. ***Hippocampus*** 2003; 13(2): 281–92.

[10] Zhao J, Yao Y, Liu Sh, Zhang T, Ren G, Yang Zh. Involvement of reactive oxygen species and high-voltage-activated calcium currents in nanoparticle zinc oxide-induced cytotoxicity in vitro. ***J f Nanoparticle Res*** 2012; 14: 1238-52.

[11] Ebuehi OAT, Akande GA. Effect of Zinc Deficiency on Memory, Oxidative Stress and Blood Chemistry in Rats. ***Advances Med Dental Sci*** 2008; 2(3): 74-82.

[12] Vogt K, Mellor J, Tong G, Nicoll R. The actions of synaptically released zinc at hippocampal mossy fiber synapses. ***Neuron*** 2000; 26(1): 187–96.

[13] Li Y, Hough CJ, Frederickson CJ, Sarvey J M. Induction of mossy fiber Ca3 long-term potentiation requires translocation of synaptically released $Zn2^{+}$. ***J Neurosci*** 2001; 21(20): 8015-25.

[14] Sanz A, Fernández-Ayala DJ, Stefanatos RK, Jacobs HT. Mitochondrial ROS production correlates with, but does not directly regulate lifespan in Drosophila. ***Aging (Albany NY)*** 2010; 2(4): 200-23.

[15] Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. ***Bioessay*** 2004; 26(5): 533–42.

[16] Sanz A, Stefanatos RK. The mitochondrial free radical theory of aging: a critical view. ***Curr Aging Sci*** 2008 1(1): 10-21.

[17] Açikgöz O, Gönenç S, Kayatekin BM, Uysal N, Pekçetin C, Semin I, Güre A. Methamphetamine causes lipid peroxidation and an increase in superoxide dismutase activity in the rat striatum. ***Brain Res*** 1998; 813(1): 200-2.

[18] Hu ML. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. ***Methods Enzymol*** 1994; 233: 380-5.

[19] Khorshidi M, Kesmati M, Khajehpour L, Najafzadehvarzi H. Comparison of the effect of iron oxide nanoparticles and bulk on the memory and associated alterations in dopamine and serotonin levels in the hippocampus of adult male rats. ***Physiol Pharmacol*** 2013; 17(2): 204-15.

[20] Sarkaki AR, Saadipour Kh, Badavi M, Alaei H, Rahim F. Effects of Forced Treadmill Exercise on passive memory in Morphine-Addicted Rats. ***J Clin Diagnostic Res*** 2007; 1(1): 555-60.

[21] Shabani M, Haghani M, Sheibani V, Janahmadi M. Changes in Motor and Learning Behaviors of Rats Prenatally Exposed to Win 55212-2, a Cannabinoid Receptor Agonist. ***Physiol Pharmacol*** 2009; 13: 120-9.

[22] Mansouri MT, Farbood Y, Sameri MJ, Sarkaki A, Naghizadeh B, Rafeirad M. Neuroprotective effects of oral gallic acid against oxidative stress induced by 6- hydroxydopamine in rats, ***Food Chem*** 2013; 138(2-3): 1028–33.

[23] Rafeirad M, Sarkaki AR, Hoseiny SE, Farbood Y, Mansouri SMT, Motamedi F. Effect of grape seed extract on lipid peroxidation duo to ischemia/hypoperfusion in male rat striatum. ***Animal Biol*** 2011; 3(4): 37-43.

[24] Taylor CG, Bettger WJ, Bray TM. Effect of dietary zinc and copper deficiency on the primary free radical defense system in rats. ***J Nutr*** 1988; 118(5): 613-21.

[25] Block ML, Wu X, Pei Z, Li G, Wang T, Qin L, et al. Nanometer size diesel exhaust particles are selectively toxic to dopaminergic neurons: The role of microglia, phagocytosis, and NADPH oxidase. ***FASEB J*** 2004; 18: 1618–20.

[26] Peters A, Veronesi B, Calderon-Garciduenas L, Gehr P, Chen LC, Geiser M. et al. Translocation and potential neurological effects of fine and ultrafine particles, A critical update. ***Part Fibre Toxicol*** 2006; 3: 1–13.

[27] Priestly BG. Review of 2007–09 literature on toxicological and health-effects relating to six nanomaterials. ***Australian Centre Human Health Risk Assessment (ACHHRA)*** 2009.

[28] Sharma V, Shukla RK, Saxena N, Parmar D, Das M, Dhawan A. DNA damaging potential of zinc

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-24]

oxide nanoparticles in human epidermal cells. ***Toxicol Lett*** 2009; 185(3): 211–8.
[29] Sanjay SS, Pandey AC, Kumar S, Pandey AK. Cell membrane protective efficacy of ZnO nanoparticles. ***Sop Transactions Nano-Technol*** 2014; 1(1): 21-9.
[30] Collingridge GL, Isaac JT, Wang YT. Receptor trafficking and synaptic plasticity. ***Nat Rev Neurosci*** 2005; 5(12): 952–62.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-24]