

تأثیر تزریق درون صفاقی نانوذرات بر حافظه و یادگیری اجتنابی - مهارى در موش‌های صحرایی

پروین خدارحمی

گروه زیست شناسی واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۱۹

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۱/۳۰

چکیده:

زمینه و هدف: نانوذرات نقره به طور گسترده‌ای در بسیاری از تکنولوژی‌ها مانند؛ غذا، پزشکی و منسوجات مورد استفاده قرار می‌گیرد. نانوذرات نشان داده شده است که نانوذرات نقره اثرات توکسیک بر سلول‌های پستانداران دارد. در معرض قرار گرفتن به وسیله نانوذرات نقره می‌تواند منجر به اثرات نورو توکسیک شده، و با اثر عملکردهای شناختی باعث اختلال در حافظه کوتاه مدت و حافظه کاری شود. هدف از این مطالعه بررسی نقش احتمالی این نانوذرات نقره در یادگیری و حافظه موش‌های صحرایی بود.

روش بررسی: این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی بر روی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم در ۵ گروه هشت‌تایی شامل؛ یک گروه کنترل و ۴ گروه تیمار که به ترتیب نرمال سالین و نانوذرات با دوزهای ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی به مدت ۲ هفته دریافت کردند، انجام شد. یک روز بعد از آخرین تزریق، به منظور ارزیابی یادگیری و حافظه از دستگاه شاتل باکس استفاده شد. شاخص‌های حافظه و یادگیری به روش آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی بررسی شد.

یافته‌ها: نانوذرات نقره در دوزهای ۵۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیچ تغییر معنی‌داری بر مدت زمان تأخیر ورود حیوان در بخش تاریک و مدت زمان ماندن حیوان در قسمت تاریک، در دستگاه شاتل باکس نداشت. علی‌رغم آن، نانوذرات در دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی‌دار مدت زمان تأخیر ورود حیوان در بخش تاریک ($p < 0/001$) و افزایش معنی‌دار مدت زمان ماندن حیوان در قسمت تاریک دستگاه ($p < 0/01$) و بدون هیچ تغییر معنی‌داری در تعداد شوک ($p > 0/05$)، نسبت به گروه کنترل شد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاکی از آن است که نانوذرات نقره در دوز بالا باعث اختلال در یادگیری و حافظه موش‌های صحرایی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات، نقره، یادگیری، حافظه، رت

* نویسنده مسئول: پروین خدارحمی، تهران، پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، گروه زیست شناسی

Email: khodarahmiparvin@yahoo.com

مقدمه

یکی از پر کاربردترین نانوذرات، نانو ذرات نقره^(۱) (Ag-NPs) می باشد. نقره در ابعاد بزرگ، فلزی با خاصیت واکنش های کم می باشد، ولی زمانی که به نانو ذرات تبدیل می شود اثرات متفاوتی دارد (۱). مطالعه ها نشان می دهد ذرات نانو نقره با توجه به ابعاد کوچک آنها که کمتر از ۱۰۰ نانومتر است، ویژگی های خاصی می یابند و کاربرد زیادی در تکنولوژی از جمله وسایل پزشکی، منسوجات و مواد غذایی و بهداشتی دارد. امروزه با کاربردهای روز افزون نانوسیلور، در معرض قرار گرفتن به وسیله این ذرات برای انسان و حیوانات افزایش یافته است. مسیرهای قرار گرفتن در معرض نانوذرات نقره از طریق مسیرهای پوستی، دهان و استنشاق می باشد. نانوذرات نقره از طریق ریه ها و روده جذب می شود و سپس به گردش خون و در نتیجه به اعضای مانند؛ کبد، کلیه، طحال و مغز می رسد. نانوذرات نقره می تواند اثرات ژنوتوکسیک^(۲) بر سلول های پستانداران داشته باشد. قرار گرفتن در معرض نانوذرات نقره منجر به اثرات نوروکسیک^(۳) بر عملکردهای شناختی، اختلال در حافظه کوتاه مدت و حافظه کاری می شود (۲). در مطالعه ای نشان داده شد موش هایی که نانو ذرات نقره با سایزهای متفاوت از طریق تزریقی دریافت کرده بودند، نانو ذرات وارد جریان خون شده و در بافت ها مخصوصاً کلیه، کبد، طحال، مغز و ریه انباشته شده بودند (۳).

یادگیری و حافظه از عالی ترین سطوح

عملکردی سیستم عصبی است. یادگیری فرآیندی است که به واسطه آن نسبت به دنیای اطراف خود اطلاعات کسب می کنیم و حافظه مکانیسمی برای کدبندی، ذخیره سازی و فرا خوانی دوباره اطلاعات یاد گرفته شده است (۴). ضعف در یادگیری و اختلال در حافظه از جمله مشکلات رایج است که ممکن است منجر به از دست دادن حافظه، فراموشی و زوال عقل شود و می تواند خطرانی مانند آلزایمر را در پی داشته باشد (۵).

هیپوکامپ در کف بطن های طرفی در لوب تمپورال مغز قرار دارد. تقریباً هر گونه تجربه حسی باعث فعال شدن حداقل بخشی از هیپوکامپ می شود. هیپوکامپ سیگنال های خروجی فراوانی به تالاموس قدامی، هیپوتالاموس و قسمت های دیگر دستگاه لیمبیک به ویژه از طریق فورنیکس، یعنی به وسیله مسیر خروجی اصلی خود ارسال می کند (۶ و ۷). هیپوکامپ و قشرهای مربوط به آن در انتقال اطلاعات از حافظه کوتاه مدت به حافظه دایمی نقش حیاتی ایفا می کنند، این ساختار در حفظ و نگهداری حافظه بعد از یک دوره تثبیت هم نقشی کلیدی دارد (۸). از طرفی نانو ذرات نقره قابلیت عبور از سد خونی مغزی (BBB)^(۴) را داشته و منجر به آپوپتوز در سلول های در معرض می شود (۹). به علاوه، نانو ذرات نقره تزریق شده

1- Silver nanoparticles
2- Genotoxic
3- Neurotoxic
4- Blood- Brain barrier

تأثیر منفی بر سلول‌های هیپوکامپ و بیان ژن‌ها داشته و منجر به مرگ برنامه ریزی شده ی سلولی می‌شود (۱۰). از آنجایی که آپوپتوز^(۱) منجر به کاهش تعداد نورون‌ها در هیپوکامپ و تخریب عملکرد اجرایی آنها می‌گردد (۱۱)، لذا هدف از این مطالعه بررسی نقش احتمالی این نانوذرات نقره در یادگیری و حافظه موش‌های صحرایی بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۰ سر موش رت نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۲۰-۲۵۰ گرم از مؤسسه رازی ایران خریداری شد. موش‌ها به صورت تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند و در اتاق مخصوص با درجه حرارت 22 ± 1 درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی نگهداری می‌شدند. تنظیم نور بر اساس یک سیکل ۲۴ ساعته شامل ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی بود. به جز در زمان آزمون، آب و غذای استاندارد کافی در دسترس حیوان بود. در کلیه مراحل پروژه ملاحظات اخلاقی طبق NIH guide و اصول اخلاقی کار بر روی حیوانات به وسیله دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند رعایت گردید.

نانو ذرات نقره با اندازه ۲۰ نانومتر از شرکت نانو مواد ایرانیان خریداری شد (US Research Nanomaterials). در ابتدا غلظت‌های مورد نظر از کلئید نانونقره به وسیله آب مقطر دیونیزه و با روش سری رقت^(۲) تهیه شد (۱۲). سپس در شرایط استریل تزریق انجام شد. روش تزریق

درون صفاقی بود و میزان تزریق با حجم هر دوز ۱ سی‌سی بود. در هر گروه هشت رت به صورت تصادفی قرار گرفت: گروه اول، سالین و ۴ گروه تیمار نانوذرات نقره در دوزهای ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در طی ۱۴ روز متوالی دریافت کردند (۱۴ و ۱۳، ۱۰). تیمار دارو در ساعت معینی از روز (۱۲-۱۰ قبل از ظهر) انجام شد. از محدودیت‌های این تحقیق ایجاد اضطراب بود، لذا برای کاهش اضطراب احتمالی موش‌ها روزی سه دقیقه نوازش می‌شدند تا با آزمایشگر خو بگیرند. سپس بعد از ۱۴ روز حافظه و یادگیری به وسیله شاتل باکس مورد ارزیابی قرار گرفت.

دستگاه شاتل باکس، حافظه کوتاه مدت را مورد سنجش قرار می‌دهد. از طریق این دستگاه می‌توان تمایل موش‌ها به فرار از منطقه نورانی به منطقه تاریک را بررسی کرد. این دستگاه متشکل از یک جعبه با کف مشبک فلزی است که به دو محفظه تاریک و روشن و "در" کشویی بین آن‌ها و یک دستگاه شوک الکتریکی تقسیم شده است. در این تست با استفاده از دستگاه شوک دهنده و در محفظه تاریک شوکی به موش‌ها داده می‌شود و ۲۴ ساعت بعد تمایل موش‌ها برای ورود از منطقه روشن به تاریک با محاسبه زمان اندازه‌گیری می‌شود. از این تست فقط در پایان مطالعه و در اتاق نسبتاً تاریک و بدون سر و صدا استفاده شد (۱۵).

1-Apoptosis
2-Serial Dilution

روش اجتنابی مهاری در دو روز متوالی انجام

گرفت

برای رعایت کردن موش‌ها، به مدت ۳۰ دقیقه در آزمایشگاه قرار گرفت. سپس هر موش در قسمت روشن دستگاه قرار داده شد، بعد از ۵ ثانیه دریچه گیوتینی را باز و بعد از ورود حیوان به قسمت تاریک بلافاصله دریچه گیوتینی بسته شد و بعد از ۲۰ ثانیه از همان قسمت حیوان را برداشته و به قفس باز گردانیم، بعد از گذشت ۳۰ دقیقه این کار دوباره انجام گرفت. (موش‌هایی که مدت زمان تأخیر ورودشان به بخش تاریک بیش از ۱۰۰ ثانیه بود از آزمایش حذف شدند).

در مرحله یادگیری، بعد از ۳۰ دقیقه دوم حیوان دوباره در قسمت روشن قرار گرفته و ۵ ثانیه بعد در کشویی را باز کرده با ورود حیوان به قسمت تاریک، در کشویی را بسته و به حیوان شوک الکتریکی با شدت ۰/۵ آمپر و زمان ۲ ثانیه داده شد و ۲۰ ثانیه بعد حیوان را برداشته به قفس منتقل شد. پس از گذشت دو دقیقه مرحله دوم آموزش تکرار شد و میزان تأخیر ورود حیوان در ورود به قسمت تاریک ثبت گردید. آنقدر مرحله یادگیری تکرار شد تا موش به مدت ۱۲۰ ثانیه در اتاق روشن باقی بماند. بیشترین زمان یادگیری موفق ۱۲۰ ثانیه بود و در صورت ورود دوباره حیوان به قسمت تاریک دریچه را بسته و دومین شوک الکتریکی به حیوان وارد گردید. در پایان این مرحله تعداد دفعات شوک های داده شده بین گروه‌ها مورد مقایسه قرار گرفت.

در مرحله آزمون، ۲۴ ساعت بعد از آزمون

یادگیری، هر حیوان در قسمت روشن دستگاه قرار گرفت. بعد از ۵ ثانیه دریچه گیوتینی را برداشته و به حیوان حدود ۳۰۰ ثانیه زمان داده تا این مدت را در قسمت روشن دستگاه یا در قسمت تاریک سپری کند. مهم‌ترین پارامترهای مد نظر در این تحقیق، اولین زمان ورود به بخش تاریک (STL)^(۱) و مجموع مدت زمانی که حیوان در قسمت تاریک دستگاه (TDC)^(۲) می‌ماند، بود. در صورتی که موش تا ۳۰۰ ثانیه وارد بخش تاریک نشد از اتاق روشن خارج و عدد ۳۰۰ برای آن در نظر گرفته شد و در صورت ورود به بخش تاریک، مدت زمان ماندن در بخش تاریک، تحت عنوان (TDC) ثبت گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند

یافته‌ها

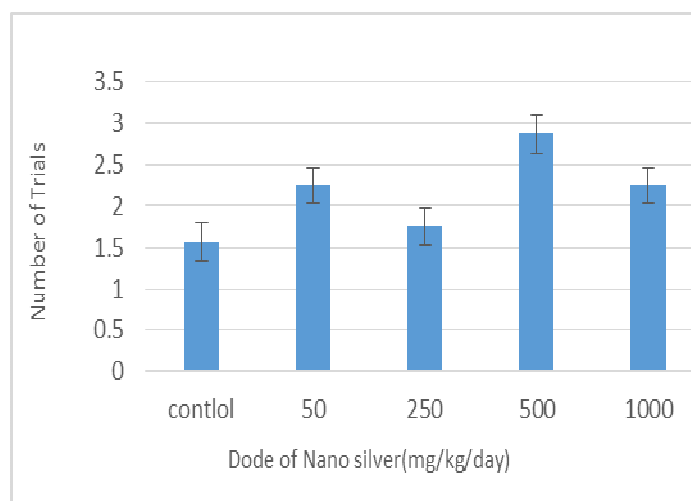
بر اساس نتایج حاصله در مقایسه میانگین تعداد شوک دریافتی در مرحله آموزش برای رسیدن به معیار یادگیری بین گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$) (نمودار ۱).

مقایسه میانگین زمان تأخیر در ورود حیوان به بخش تاریک (STL) در روز آزمون نشان داد که بین گروه دریافت کننده نانو ذرات نقره با دوز ۱۰۰۰

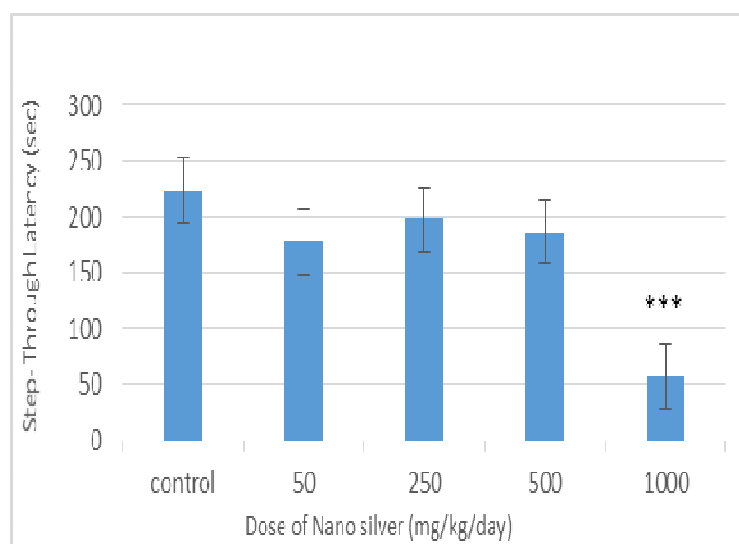
1-Step-Through Latency
2-Time spent in Dark Compartment

کننده نانو نقره با دوز ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم
نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری مشاهده شد
($p < 0.01$) (نمودار ۲).

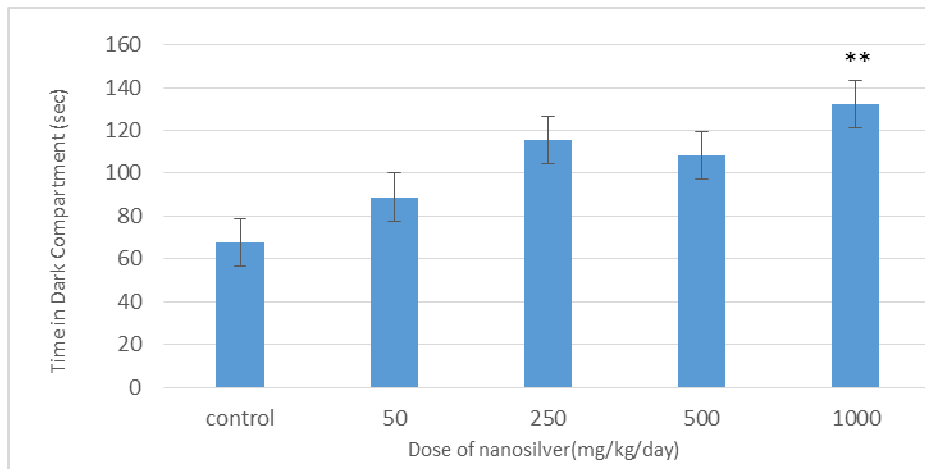
میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل تفاوت
معنی داری مشاهده شد ($p < 0.001$) (نمودار ۲).
مقایسه میانگین زمان گذرانده در بخش تاریک
(TDC) در روز آزمون نشان داد که بین گروه دریافت



نمودار ۱: اثر نانوذرات نقره در دوزهای ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز. میانگین تعداد دفعات دریافت شوک تا رسیدن به معیار یادگیری در گروه های تیمار در مقایسه با کنترل معنی دار نمی باشد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف از میانگین بیان شده است و هر گروه ۸ سر موش می باشد.



نمودار ۲: اثر نانوذرات نقره در دوزهای ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز. میانگین زمان تأخیر در ورود حیوان به بخش تاریک (STL) در روز آزمون در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بود ($p < 0.001$) ***. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف از میانگین بیان شده است و هر گروه ۸ سر موش می باشد.



نمودار ۳: اثر نانوذرات نقره در دوزهای ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز. میانگین زمان ماندن در قسمت تاریک دستگاه (TDC) در روز آزمون در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بود ($p < ۰/۰۱$). ** نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف از میانگین بیان شده و هر گروه ۸ سر موش می باشد.

بحث

منفی نانو ذرات نقره بر روی حافظه و یادگیری می باشد.

همان طور که قبلاً اشاره شد نانو ذرات نقره کاربردهای گسترده ای در پزشکی، مواد غذایی و بهداشتی دارد. مسیرهای در معرض قرار گرفتن نانوذرات نقره، از طریق مسیرهای پوستی، دهان و استنشاق می باشد. نانو ذرات نقره ممکن است از طریق ریه و روده جذب شوند و سپس به گردش خون و در نتیجه به اعضای مختلف مانند؛ کبد، کلیه، طحال، مغز، قلب و بیضه برسند. نانو نقره می تواند به عنوان یک آلرژن پوستی عمل کند. استنشاق نانوذرات نقره عمدتاً بر ریه ها و کبد تأثیر می گذارد. قرار گرفتن در معرض نانوذرات نقره می تواند اثر نوروٹوکسیک داشته باشد (۲).

مطالعات نشان می دهد قرار گرفتن در معرض نانوذرات نقره منجر به اثرات نوروٹوکسیک بر عملکردهای شناختی، اختلال در حافظه کوتاه مدت و حافظه کاری می شود، هدف از این مطالعه ارزیابی اثر نانوذرات نقره بر حافظه و یادگیری بود. بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه تیمار با دوز بالای نانو ذرات نقره (۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) میزان حافظه و یادگیری را کاهش می دهد. نتایج نشان داد که نانوذرات نقره موجب کاهش معنی دار زمان تأخیر در ورود به بخش تاریک دستگاه (STL) و افزایش معنی دار مقدار زمان باقی ماندن موش ها در قسمت تاریک دستگاه (TDC) شده است، که نشان دهنده تأثیر

سوکو و همکاران بعد از انجام آزمایش‌های گسترده اعلام کردند که نانوذرات نقره و داروهایی که از آن ساخته می‌شوند چه به صورت خوراکی و چه به صورت تماس پوستی می‌توانند یک تهدید مهم برای سلامتی جوامع انسانی باشند. استفاده دراز مدت از این مواد بدون در نظر گرفتن عواقب آن می‌تواند زندگی موجودات زنده را تحت تأثیر قرار دهد (۱۶ و ۱۷).

در راستای نتایج به دست آمده از این تحقیق، کیم و همکاران سه دوز پایین، متوسط و بالا (۳۰،۳۰۰،۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از نانو ذرات نقره را بر بافت کبد بررسی کردند و نشان دادند که نانوذرات نقره در دوزهای بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث تغییر در آنزیم‌های کبدی و آسیب به بافت کبد می‌گردد (۱۸). به علاوه، بارایلان و همکاران در تیمار جنین‌های ماهی با غلظت‌های بیش از ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره، مشاهده کردند که رشد و نمو آنها مختل و همچنین حداکثر پهنای تکتوم بینایی به عنوان اندیکاتور رشد و نمو مغز میانی، به طور معنی‌داری کاهش یافت و روند این کاهش به صورت وابسته به دوز بود (۱۹). از طرفی در تحقیقی در سال ۲۰۱۳، روی تأثیر نانو ذرات نقره بر میزان فعالیت آنزیم فسفوکراتین کیناز موش‌های بزرگ آزمایشگاهی انجام شد، نشان داد که در هیچ یک از دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ PPm تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تیمار و گروه کنترل وجود ندارد، اما در دوز ۴۰۰ PPm از نانوذرات نقره بیشترین تأثیر بافتی

در عضلات رت‌های نر دیده شد و برخی از میوفیبریل ها را پاره کرده بود (۲۰).

مکانیسم اثر نانو ذرات نقره با دوز بالا بر اختلال حافظه و یادگیری مشخص نیست، اما آنچه مسلم است این است که با توجه به این که تزریق نانو نقره به رت، باعث عبور این ذرات از سد خونی مغزی و تجمع آنها در مغز می‌شود (۹). از طرفی، هیپوکامپ یکی از ساختارهای مهمی است که در عملکردهای شناختی، حافظه و یادگیری نقش دارد (۲۱)، لذا این احتمال می‌رود که نانو ذرات نقره بر مراکز مغزی مانند هیپوکامپ اثر گذاشته و باعث اختلال در رفتار یادگیری و حافظه شده است. در راستای نتایج به دست آمده در این مطالعه، نشان داده شده است که نانو ذرات نقره می‌تواند با اثر بر عملکردهای شناختی، باعث اختلال در حافظه کوتاه مدت و حافظه کاری شود (۲). به علاوه مادرانی که در دوران بارداری در معرض نانو ذرات نقره قرار گرفته بودند منجر به اختلالات عصبی رفتاری مختلف در فرزندان آنها می‌شود (۲۲).

از طرفی مطالعه‌های بسیاری اثرات سمی این نانو ذرات را با تغییر در بیان ژن‌ها نشان داده است. تحت تأثیر نانو نقره در مناطق مختلف مغز به وسیله رحمان و همکاران مطرح شده است. نانو ذرات نقره تزریق شده تأثیر منفی بر سلول‌های هیپوکامپ و بیان

به روش اجتنابی-مهارى مورد بررسی قرار گرفت، لذا روش‌های دیگر بررسی حافظه و یادگیری و مطالعه‌های مولکولی و بافتی در گروه‌های مورد بررسی پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که قرار گرفتن در معرض نانو ذرات نقره با غلظت زیاد، باعث اختلال حافظه و یادگیری می‌شود.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر حاصل طرح تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند بود که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد.

ژن‌ها داشته و منجر به مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌شود. به طوری که نانو ذرات نقره موجب تولید $ROS^{(1)}$ از طریق یک مسیر متابولیکی و القای استرس اکسیداتیو و در نهایت منجر به آسیب اکسیداتیو DNA می‌شود (۱۲). ژیا و همکاران نشان دادند که تولید بالای ROS ، بر دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی غلبه می‌کند و سبب کاهش عملکرد میتوکندری می‌شود و این وقایع استرس اکسیداتیو را افزایش داده و منجر به آسیب سلولی از جمله آپوپتوز می‌شود (۲۳).

اهمیت شکل‌گیری هیپوکامپ برای حافظه بر اساس مطالعه‌های نورواناتومیک و الکتروفیزیولوژیکی به خوبی مشخص شده است. آپوپتوز و تخریب نورونی نقش کلیدی در نقص حافظه و یادگیری در بسیاری از انواع بیماری‌های سیستم عصبی مرکزی بازی می‌کند. به عبارت دیگر آپوپتوز منجر به کاهش تعداد نورون‌ها در هیپوکامپ و تخریب عملکرد اجرایی آنها می‌گردد (۱۳). مرگ سلولی آپوپتوزی در نهایت منجر به سمیت عصبی پس سیناپسی و تخریب حافظه می‌گردد (۲۴). از طرفی، آپوپتوز نورونی به عنوان یک نشانگر بیماری آلزایمر شناخته می‌شود (۲۵ و ۲۶). بنابراین، احتمال می‌رود که نانو ذرات نقره در دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق دژنره شدن سلول‌های عصبی و ایجاد آپوپتوز، توانسته است باعث اختلال در حافظه و یادگیری شود. با توجه به این که اولین بار تأثیر نانو ذرات نقره بر اختلال ایجاد شده در حافظه و یادگیری

REFERENCES

- 1-Kawata K, Osawa M, Okabe S. In vitro toxicity of silver nanoparticles at noncytotoxic doses to HepG2 human hepatoma cells. *Environ Sci Technol* 2009; 43: 6046-51.
- 2-Świdwińska-Gajewska AM, Czerczak S. Nanosilver - harmful effects of biological activity. *Med Pr* 2014; 65(6): 831-45.
3. Tang J, Xi T. Status of biological evaluation on silver nanoparticles. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi* 2008; 25(4):958-61.
4. Sharifzadeh M, Sharifzadeh K, Naghdi N, Ghahremani MH, Roghani A. Posttraining intrahippocampal infusion of a protein kinase A inhibitor impairs spatial memory retention in rats. *J Neurosci Res* 2005; 79(3): 392-400.
5. Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 66(2): 137-47.
6. Paul CM, Magda G, Abel S. Spatial memory theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents. *Behav Brain Res* 2009; 203(2): 151-64.
7. Ganong WF. Medical physiology. California: Harcourtace Jovanovich, Inc; 2007; 643-5.
8. Meilandt WJ, Barea-Rodriguez E, Harvey SA, Martinez JL Jr. Role of hippocampal CA3 muopioid receptors in spatial learning and memory. *J Neurosci* 2004; 24: 2953-62.
9. Tang J, Xiong L, Wang S, Wang J, Liu L, Li J, et al. Distribution, translocation and accumulation of silver nanoparticles in rats. *J Nanosc Nanotechnol* 2009; 9(8) 4924-32.
10. Rahman MF, Wang J, Patterson TA, Saini UT, Robinson BL, Newport GD, et al. Expression of genes related to oxidative stress in the mouse brain after exposure to silver-25 nanoparticles. *Elsevier Toxicol Lett* 2009; 187(1): 15-21.
11. Zhao CH, Liu HQ, Cao R, Ji AL, Zhang L, Wang F, et al. Effects of dietary fish oil on learning function and apoptosis of hippocampal pyramidal neurons in streptozotocin-diabetic rats. *Brain Res* 2012; 1457: 33-43.
12. Hogstrand C, Wood CM. The Toxicity of Silver to Marine Fish. USA: University of Kentucky; 1996; 109-12.
13. Nikkha A, Ghahremanitamadon F, Zargooshnia S, Shahidi S, Soleimani Asl S. Effect of Amyloid β -Peptide on Passive Avoidance Learning in Rats: A Behavioral Study. *Avicenna Journal of Neuro Psych Physiology* 2014; 1(1): e18664.
14. Ranjbar A, Ataie Z, Khajavi F, Ghasemi H. Effects of silver nanoparticle (Ag NP) on oxidative stress biomarkers in rat. *Nanomedicine Journal* 2014; 1(3): 205-10.
15. Azami NS, Piri M, Oryan S, Jahanshahi M, Babapour V, Zarrindast MR. Involvement of dorsal hippocampal alpha-adrenergic receptors in the effect of scopolamine on memory retrieval in inhibitory avoidance task. *Neurobiol Learn Mem* 2010; 93(4): 455-62.
16. Soto KF, Carrasco A, Powell TG, Garza KM, Murr LE. Comparative in vitro cytotoxicity assessment of some manufactured nanoparticulate materials characterized by transmission electron microscopy. *J Nanoparticle Res* 2005; 7: 145-69.
17. Soto KF, Murr LE, Garza KM. Cytotoxic responses and potential respiratory health effects of carbon and carbonaceous nanoparticles in the paso del norte airshed environment. *Int J Environ Res Public Health* 2008; 5: 12-25.
18. Kim YS, Kim JS, Cho HS, Rha DS, Kim JM, Jung Duck Park, et al. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol* 2008; 20(6): 575-83.
19. Bar-Ilan O, Albrecht RM, Fako VE, Furgeson DY. Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebrafish embryos. *Small* 2009; 5(16): 1897-910.
20. Khodadadi S, Naghsh N, Mashayekh A. Effects of silver nanoparticle on phosphocreatine kinase and histological changes of skeletal muscle tissue in male wistar rat. *Mazand Univ Med Sci J* 2113: 23(97): 36-41.
21. Deng W, Aimone JB, Gage FH. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nat Rev Neurosci* 2010; 11(5): 339-50.
22. Ghaderi S, Tabatabaei SR, Varzi HN, Rashno M. Induced adverse effects of prenatal exposure to silver nanoparticles on neurobehavioral development of offspring of mice. *J Toxicol Sci* 2015; 40(2): 263-75.
23. Xia T, Kovochich M, Brant J, Hotze M, Sempf J, Terry Oberley, et al. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. *Nano Lett* 2006; 6(8): 1794-807.

24. Rai S, Kamat PK, Nath C, Shukla R. Glial activation and post-synaptic neurotoxicity: The key events in Streptozotocin (ICV) induced memory impairment in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2014; 117: 104-17.
25. Anderson AJ, Cummings BJ, Cotman CW. Increased immunoreactivity for Jun-and Fos-related proteins in Alzheimer's disease: association with pathology. *Exp Neurol* 1994; 125(2): 286-95.
26. Yamatsuji T, Okamoto T, Takeda S, Murayama Y, Tanaka N, Nishimoto I. Expression of V642 APP mutant causes cellular apoptosis as Alzheimer trait-linked phenotype. *EMBO J* 1996; 15(3): 498-509.

Effect of Silver Nano-particles on Passive Avoidance learning in Rats

Khodarahmi P

Department of biology, Branch of Parand, Islamic Azad University, Parand, Iran

Received: 19 Apr 2015 Accepted: 10 Jul 2015

Abstract

Background & aim: Silver nanoparticles (Ag NPs) have been widely used in many technologies to produce medical devices, food technology and textiles. Silver nanoparticles may be absorbed through the lungs and intestine into circulation and thus may reach such organs as the liver, kidney, spleen, heart and testes and brain. It has been demonstrated that silver nanoparticles may have toxic effects on mammalian cells. There are some alarming reports on the adverse effects of silver nanoparticles on reproduction of experimental animals. Exposure to silver nanoparticles may exert a neurotoxic effect and affect cognitive functions, causing the impairment of short-term and working memory. The purpose of this study was to investigate the possible protective role of Ag NP on the learning and memory of rats.

Methods: The present experimental study was conducted on forty male Wistar rats weighing 200 to 250 g which were divided into five groups of eight as follows: control group and 4 groups of treatment. Control group rats received saline and treatment group's rats received Ag NP at doses of 50, 250, 500 and 1000 mg/ kg/ day using Intra Peritoneal injection (IP) for 14 days. One day after the last injection, the learning and memory function in the rats was examined by the passive avoidance task. Measure of memory and learning were assessed using One-Way ANOVA by SPSS using the Tukey s' test.

Results: The results showed that Ag NP at dose of 50, 250, 500 mg/kg made no significant change in the STL (step-through latency) and TDC (Time in Dark Compartment), compared to the control group in the passive avoidance task. Despite, Ag NP at dose of 1000 mg/kg significantly reduced the STL ($p < 0.01$) and increased TDC ($p < 0.001$), but no significant change in the number of trials ($p > 0.05$) compared to the control group.

Conclusion: These data suggest that ip microinjection of Ag NP could impair learning and memory at high doses.

Keywords: Silver, Nanoparticles, Learning, Memory, Rats

Corresponding Author: Khodarahmi P, Department of biology, Branch of Parand, Islamic Azad University, Parand, Iran

Email: khodarahmiparvin@yahoo.com

Please cite this article as follows:

Khodarahmi P. Effect of Silver Nano-particles on Passive Avoidance learning in Rats. Armaghane-danesh 2015; 20 (6): 472-482.