

مقاله پژوهشی

## اثر نانوذرات اکسید منیزیم بر اضطراب ناشی از سیکلوفسفامید و دخالت گیرنده‌های موسکارینی در موش کوچک آزمایشگاهی نر

مهناز کسمتی\*، الهام رحیمی‌فر

بخش زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

پذیرش: ۱۹ بهمن‌ماه ۱۳۹۸

دریافت: ۱۴ دی‌ماه ۱۳۹۸

### چکیده

**زمینه و هدف:** سیکلوفسفامید یک داروی پرکاربرد شیمی‌درمانی با عوارضی مانند اضطراب و افسردگی است. مطالعات پیشین اثر ضداضطرابی نانوذرات اکسید منیزیم را نشان داده است. هدف این تحقیق، بررسی اثر نانوذرات اکسید منیزیم بر اضطراب حاصل از سیکلوفسفامید و دخالت گیرنده‌های موسکارینی کولینرژیک با آن در موش‌های سوری نر بالغ می‌باشد.

**روش‌ها:** در این مطالعه تجربی ۸۴ سر موش سوری نر بالغ نژاد NMRI با وزن ۳۵-۲۵ گرم به طور تصادفی به ۱۲ گروه هفت‌تایی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل: کنترل (دریافت‌کننده سالین ۵ میلی‌لیتر/کیلوگرم)، نانواکسید منیزیم (۲/۵ و ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم)، سیکلوفسفامید (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، نانواکسید منیزیم ۲/۵ یا ۵ + سیکلوفسفامید ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، اسکوپولامین (۱ میلی‌گرم/کیلوگرم)، اسکوپولامین ۱ + نانواکسید منیزیم ۲/۵ یا ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم، اسکوپولامین ۱ + سیکلوفسفامید ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، اسکوپولامین ۱ یا ۲/۵ + سیکلوفسفامید ۵۰ بودند. کلیه داروها به صورت درون صفاقی تزریق و اضطراب و فعالیت حرکتی حیوانات با دستگاه ماز بعلاوه مرتفع بررسی گردید.

**یافته‌ها:** نانواکسید منیزیم (۵ و ۲/۵) اثر اضطراب‌زایی سیکلوفسفامید (۵۰) را پیشگیری نمود درحالی‌که اثری بر فعالیت حرکتی نشان نداد. اثر ضد اضطرابی نانواکسید منیزیم در حضور اسکوپولامین (۱) کاهش یافت. اثر اضطراب‌زایی سیکلوفسفامید در حضور اسکوپولامین کاهش یافت. اثر پیشگیرانه نانواکسید منیزیم بر خاصیت اضطراب‌زایی سیکلوفسفامید در حضور اسکوپولامین کاهش یافت.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این تحقیق نشان داد که احتمالاً گیرنده‌های موسکارینی کولینرژیک، در عملکرد ضداضطرابی نانواکسید منیزیم به تنهایی و توأم با سیکلوفسفامید دخالت می‌کنند.

**واژه‌های کلیدی:** اضطراب، سیکلوفسفامید، گیرنده موسکارینی، نانو ذرات، اکسید منیزیم

### مقدمه

بیمارانی که شیمی‌درمانی با سیکلوفسفامید را برای بهبود سرطان خود پذیرفته‌اند علائم افسردگی و اضطراب را تجربه نموده‌اند. تزریق سیستمیک این دارو به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فقط یک بار در هفته به مدت ۴ هفته در موش‌های نر منجر به اختلالاتی همچون اضطراب و کاهش تکثیر سلول‌ها در ناحیه شکنج‌دندانه‌ای هیپوکمپ گردید [۳]. مکانیسم اثر اضطراب‌زایی دارو هنوز ناشناخته است. قسمت‌های مختلفی از مغز در پدیده اضطراب نقش دارند، گزارش‌ها نشان می‌دهند که فعال شدن گیرنده‌های موسکارینی

سرطان یکی از بیماری‌های گریبانگیر بشری با منشاء ژنتیکی و یا محیطی است که در آن جهش‌های متوالی، قوانین حاکم بر تقسیم سلولی را بر هم می‌زند [۱، ۲]. درمان سرطان به روش‌های مختلفی مانند جراحی، شیمی‌درمانی، پرتودرمانی و ... انجام می‌گیرد. یکی از داروهای شیمی‌درمانی، سیکلوفسفامید می‌باشد [۳]. این دارو با خاصیت آلیله‌کنندگی مولکول DNA، پس از جذب از دستگاه گوارش، توزیع در مایعات بدن و حتی عبور از سد خونی مغزی، در کبد به متابولیت‌های فعال تبدیل می‌شود [۴].

سیکلوفسفامید (باکتر آلمان) و اسکوپولامین هیدروبروماید (سیگما آمریکا) بودند. مقادیر مورد استفاده کلیه داروها بر اساس مطالعات پیشین بوده است.

### آماده سازی داروها

داروها قبل از انجام آزمایش ها به صورت روزانه و با حل کردن در نرمال سالین آماده می شدند. نانوذرات اکسید منیزیم ابتدا در حمام اولتراسونیک پراکنده می شدند و قبل از تزریق هم توسط ورتکس، برای چند دقیقه هم زده می شدند. تمام ترکیبات در حجمی متناسب با جرم بدن هر موش بر حسب میلی لیتر به صورت درون صفاقی تزریق شدند [۱۱].

### گروه بندی

حیوانات به طور تصادفی در ۱۲ گروه (در هر گروه ۷ موش) قرار گرفتند. این گروه ها شامل کنترل (نرمال سالین ۵ میلی لیتر/کیلوگرم)، نانواکسید منیزیم (۵ و ۲/۵ میلی گرم/کیلوگرم)، سیکلوفسفامید (۵۰ میلی گرم/کیلوگرم)، نانواکسید منیزیم ۲/۵ توام با سیکلوفسفامید ۵۰، نانواکسید منیزیم ۵ توام با سیکلوفسفامید ۵۰، اسکوپولامین (۱ میلی گرم/کیلوگرم)، اسکوپولامین ۱ توام با نانواکسید منیزیم ۲/۵، اسکوپولامین ۱ توام با نانواکسید منیزیم ۵، اسکوپولامین ۱ توام با سیکلوفسفامید ۵۰ و نانواکسید منیزیم ۲/۵ و سیکلوفسفامید ۵۰، توام اسکوپولامین ۱ و نانواکسید منیزیم ۲/۵ و سیکلوفسفامید ۵۰ بودند [۱۱، ۱۲]. در ابتدا تاثیر نانوذرات اکسید منیزیم بر اضطراب ناشی از سیکلوفسفامید بررسی و سپس نحوه عملکرد تاثیر نانوذرات اکسید منیزیم بر اضطراب ناشی از سیکلوفسفامید نیز بررسی شد. از آنتاگونیست سیستم کولینرژیک یعنی اسکوپولامین جهت بررسی نقش سیستم کولینرژیک استفاده شد. تمام حیوانات، ۲۰ دقیقه پس از تزریق، تحت آزمون ماز بعلاوه مرتفع جهت سنجش اضطراب قرار گرفتند.

### تست ماز بعلاوه مرتفع

جهت ارزیابی اضطراب از ماز بعلاوه مرتفع استفاده شد. این دستگاه از چهار بازو با مشخصات طول، عرض و ارتفاع ۳۰ × ۵ × ۱۵ سانتی متر تشکیل شده است. دو بازوی باز و دو بازوی بسته بوده و بازوهای باز، روبروی هم و بازوهای بسته

و نیکوتینی سیستم کولینرژیک در ناحیه اینفرالیمبیک آمیگدال مرکزی سبب افزایش اضطراب در موش ها می شوند [۵، ۶].

از سوی دیگر، اختلال در تعادل برخی از عناصر ضروری بدن از جمله یون منیزیم، نیز می توانند در بروز رفتارهای اضطرابی نقش به سزایی داشته باشند [۷]. کمبود یون منیزیم می تواند با اثر بر عملکرد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال، منجر به افزایش رفتارهای شبه اضطرابی در مدل های آزمایشگاهی شود در حالی که مصرف برخی از مکمل های منیزیم، از جمله سولفات منیزیم می تواند از ایجاد اضطراب جلوگیری کند [۸].

با توسعه نانوداروها، مصرف نانوذرات در سیستم های زیستی جایگاه مشخصی را به خود اختصاص داده است [۹، ۱۰]. مطالعات پیشین ما نشان داده اند که نانوذرات اکسید منیزیم در مدل های حیوانی می توانند در پاسخ های رفتاری مختلف از جمله درد، اضطراب و افسردگی موثر باشند [۹، ۱۱]. تجویز حاد و مزمن نانواکسید منیزیم می تواند، سبب تغییر رفتارهای اضطرابی در معروف ترین مدل اضطراب سنجی (ماز به علاوه مرتفع) گردند [۱۱].

با توجه به شواهد فوق، هدف از این مطالعه، بررسی اثر نانوذرات اکسید منیزیم در پیشگیری از اثرات اضطراب زایی سیکلوفسفامید به عنوان یک داروی ضد سرطان و نقش گیرنده های موسکارینی سیستم کولینرژیک در تجویز مستقل و توام آن ها در موش های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ می باشد.

## مواد و روش ها

### حیوانات

در این مطالعه تجربی از ۸۴ سر موش سوری نر بالغ نژاد NMRI با وزن ۲۵-۳۵ گرم استفاده شد. حیوانات در دمای  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$  به صورت گروهی در قفس های مخصوص نگهداری شدند. شرایط نور به صورت چرخه ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی به طور ثابت تامین شد و حیوانات به جز در زمان انجام آزمایشات به آب و غذای مناسب به میزان کافی دسترسی داشتند. این مطالعه پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه شهید چمران اهواز با کد EE/97,24,3,1789/Scu.ac.ir انجام شد.

### داروها

داروها شامل نانو اکسید منیزیم (US Nano آمریکا)،

تغییرات هر گروه به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار از میانگین محاسبه شد و نتایج با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تکمیلی توکی بررسی شدند و  $p < 0/05$  به عنوان تفاوت معنی دار تلقی شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار ۳ InStat استفاده گردید.

## یافته‌ها

### اثر نانو ذرات اکسید منیزیم بر شاخص‌های اضطراب در حضور و غیاب اسکوپولامین

نانوذرات اکسید منیزیم (۵ و ۲/۵) ضمن کاهش فعالیت حرکتی حیوان (جدول ۱)، سبب افزایش درصد زمان حضور در بازوهای باز نسبت به کنترل گردیدند ( $p < 0/05$ ، نمودار ۱). همچنین تزریق اسکوپولامین به تنهایی ضمن کاهش فعالیت حرکتی (جدول ۱)، سبب ایجاد علائم اضطراب نسبت به گروه کنترل با کاهش درصد زمان حضور در بازوهای باز گردید ( $p < 0/05$ ). تزریق توام اسکوپولامین و نانو اکسید منیزیم (۵ و ۲/۵)، بدون تغییر فعالیت حرکتی (جدول ۱)، افزایش معنی داری در درصد زمان حضور موش‌ها در بازوهای باز نسبت به گروه اسکوپولامین نشان داد ( $p < 0/05$ ).

نیز مقابل هم قرار گرفته‌اند. دستگاه در ارتفاع ۵۰ سانتی متری از سطح افقی زمین قرار می‌گیرد و یک لامپ ۱۰۰ واتی در فاصله یک متری از بخش مرکزی آن قرار می‌گیرد. برای ارزیابی رفتارهای اضطرابی، حیوان در بخش مرکزی دستگاه گذاشته می‌شود به طوری که سر آن روبروی یکی از بازوهای باز قرار گیرد تا بتواند آزادانه دستگاه را به مدت ۵ دقیقه جستجو کند. در این دستگاه حیوان به طور ذاتی ترجیح می‌دهد در بازوهای بسته بماند.

تعداد دفعاتی که موش وارد بازوهای باز و بسته می‌شد و مدت زمانی که در بازوهای باز و بسته می‌ماند اندازه‌گیری شدند. مبنای ورود و یا زمان سپری شده در هر بازو بر اساس قرار گرفتن هر چهار پای حیوان در راهروی مورد نظر، بررسی گردید. شاخص اضطراب از روش زیر محاسبه گردید.

$$\text{میزان فعالیت حرکتی حیوان} = \frac{\text{مدت زمان ماندن در بازوی باز} \times 100}{\text{مدت زمان ماندن در بازوی باز} + \text{مدت زمان ماندن در بازوی بسته}}$$

میزان فعالیت حرکتی حیوان، به روش زیر محاسبه می‌شود.

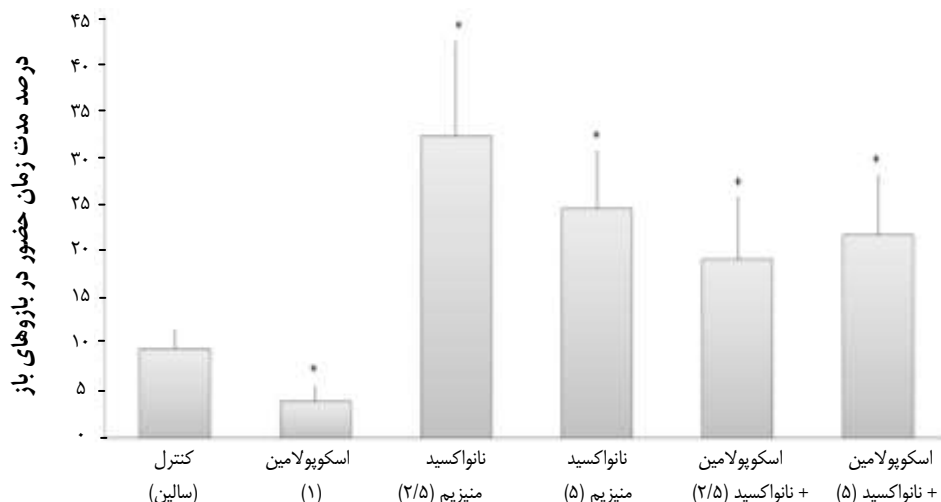
تعداد ورودی موش به بازوهای بسته + تعداد ورودی موش به بازوهای باز = فعالیت حرکتی

## تجزیه و تحلیل داده‌ها

جدول ۱- بررسی میزان فعالیت حرکتی در گروه‌های مورد مطالعه

شماره گروه	نام گروه‌ها	تعداد کل ورود به بازوهای باز و بسته
۱	سالمین	۱۸/۱ $\pm$ ۰/۹
۲	نانو اکسید منیزیم (۲/۵)	۱۱/۵ $\pm$ ۱/۸**
۳	نانو اکسید منیزیم (۵)	۹ $\pm$ ۱***
۴	سیکلوفسفامید (۵۰)	۱۳/۳ $\pm$ ۱/۱**
۵	اسکوپولامین (۱)	۱۴/۱ $\pm$ ۱/۶**
۶	نانو اکسید منیزیم (۲/۵) + سیکلوفسفامید	۱۳/۵ $\pm$ ۱/۱
۷	نانو اکسید منیزیم (۵) + سیکلوفسفامید	۱۶ $\pm$ ۱/۴
۸	اسکوپولامین + نانو اکسید منیزیم (۲/۵)	۱۰/۵ $\pm$ ۱
۹	اسکوپولامین + نانو اکسید منیزیم (۵)	۱۱/۱ $\pm$ ۰/۸
۱۰	اسکوپولامین + سیکلوفسفامید	۱۲/۳ $\pm$ ۱/۸
۱۱	اسکوپولامین + نانو اکسید منیزیم (۲/۵) + سیکلوفسفامید	۹/۲ $\pm$ ۲
۱۲	اسکوپولامین + نانو اکسید منیزیم (۵) + سیکلوفسفامید	۱۰/۶ $\pm$ ۱/۸۲۱

داده‌ها نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار از میانگین می‌باشد. \*\*: تفاوت معنی دار با گروه سالمین با  $p < 0/01$ . \*\*\*: تفاوت معنی دار با گروه سالمین با  $p < 0/001$ . اعداد مقابل نام گروه‌ها به واحد میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن حیوان می‌باشند.



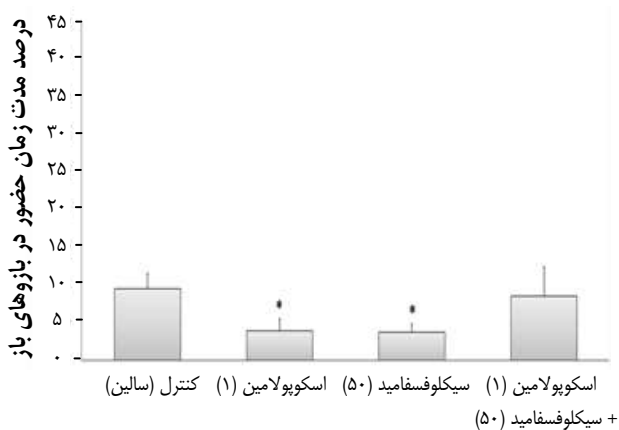
مقادیر بر حسب میلی گرم/کیلوگرم

**نمودار ۱-** مقایسه اثر نانوذرات اکسید منیزیم بر شاخص‌های اضطراب در حضور و غیاب اسکوپولامین. هر ستون نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار از میانگین می‌باشد. \*: تفاوت معنی‌دار با گروه دریافت‌کننده سالیین با  $p < 0.05$ ; †: تفاوت معنی‌دار با گروه دریافت‌کننده اسکوپولامین با  $p < 0.05$  (تعداد حیوانات در هر گروه ۷ عدد می‌باشد).

بازوهای باز نسبت به گروه توام اسکوپولامین و مقادیر مختلف نانوذرات اکسید منیزیم ( $p < 0.05$ ) گردید (نمودار ۴).

## بحث

نتایج مطالعه حاضر روشن نمود که مقادیر مختلف نانو اکسید منیزیم اثر ضد اضطرابی نشان داده و توانست اثر اضطراب‌زایی سیکلوفسفامید را بهبود بخشد و اسکوپولامین با داشتن اثر اضطراب‌زایی، اثر منیزیم را در حضور سیکلوفسفامید



مقادیر بر حسب میلی گرم/کیلوگرم

**نمودار ۲-** مقایسه اثر سیکلوفسفامید بر شاخص‌های اضطراب در حضور و غیاب اسکوپولامین. هر ستون نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار از میانگین می‌باشد. \*: تفاوت معنی‌دار با گروه دریافت‌کننده سالیین با  $p < 0.05$  (تعداد حیوانات در هر گروه ۷ عدد می‌باشد).

## اثر سیکلوفسفامید بر شاخص‌های اضطراب در حضور و غیاب اسکوپولامین

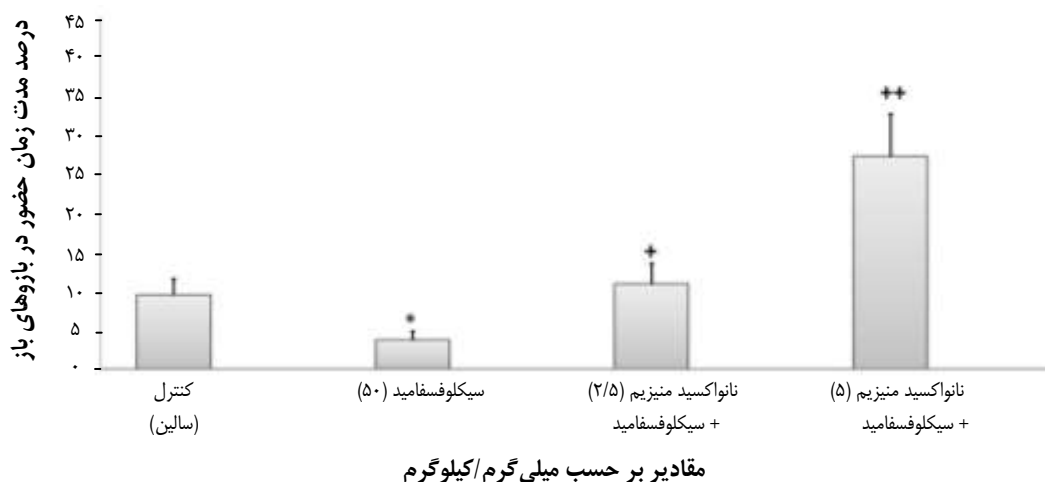
سیکلوفسفامید سبب ایجاد علائم اضطراب نسبت به کنترل با کاهش درصد زمان حضور حیوان در بازوهای باز شد ( $p < 0.05$ ) (نمودار ۲) و بر فعالیت حرکتی حیوان نیز تاثیر معنی‌داری نشان داد ( $p < 0.01$ ) (جدول ۱). اسکوپولامین به همراه سیکلوفسفامید تاثیر معنی‌داری در درصد زمان حضور موش در بازوهای باز نسبت به اسکوپولامین و سیکلوفسفامید به تنهایی نداشت.

## اثر نانوذرات اکسید منیزیم بر اضطراب ناشی از سیکلوفسفامید

نانوذرات اکسید منیزیم (۵ و ۲/۵) قبل از سیکلوفسفامید، بدون تاثیر بر فعالیت حرکتی (جدول ۱)، سبب افزایش درصد حضور در بازوهای باز نسبت به گروه سیکلوفسفامید به تنهایی، گردید ( $p < 0.05$ ) و ( $p < 0.01$ ) (نمودار ۳).

## تجویز توام نانوذرات اکسید منیزیم و سیکلوفسفامید بر اضطراب در حضور اسکوپولامین

تزیق هر سه دارو، بدون تغییر در فعالیت حرکتی حیوان (جدول ۱) موجب کاهش درصد زمان حضور موش‌ها در



مقادیر بر حسب میلی گرم/کیلوگرم

**نمودار ۳-** مقایسه اثر نانو ذرات اکسید منیزیم بر اضطراب ناشی از سیکلوفسفامید. هر ستون نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار از میانگین می باشد. \*: تفاوت معنی دار با گروه دریافت کننده سالین با  $p < 0.05$  و  $p < 0.01$ ؛ تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه دریافت کننده سیکلوفسفامید به ترتیب با  $p < 0.05$  و  $p < 0.01$  (تعداد حیوانات در هر گروه ۷ عدد می باشد).

کاهش داد. مطالعات پیشین نشان می دهند که بین اختلال در هومئوستاز منیزیم و اضطراب پاتولوژیک ارتباط وجود دارد و مکمل منیزیم می تواند باعث کاهش اضطراب در موش ها شود [۱۳، ۱۴].

در پستانداران مسیرهای بالقوه ای جهت بیان ارتباط بین منیزیم و اضطراب توصیف شده است از جمله این که منیزیم می تواند فعالیت گیرنده های NMDA موثر در اضطراب را مهار و سبب کاهش فعالیت نورون های دارای تحریک پذیری بالا شود و منیزیم می تواند اضطراب را از طریق کاهش انتشار پیش سیناپسی گلوتامات و افزایش میزان دسترسی به گابا<sup>۲</sup>، کاهش دهد [۱۵، ۱۶].

کاهش داد. مطالعات پیشین نشان می دهند که بین اختلال در هومئوستاز منیزیم و اضطراب پاتولوژیک ارتباط وجود دارد و مکمل منیزیم می تواند باعث کاهش اضطراب در موش ها شود [۱۳، ۱۴].

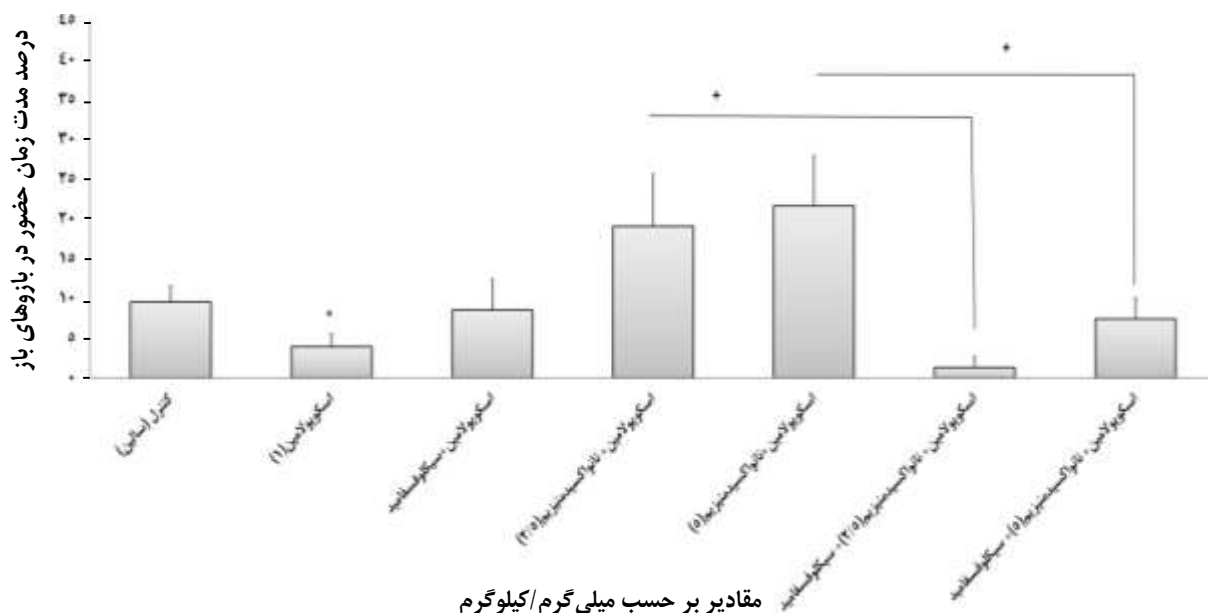
در پستانداران مسیرهای بالقوه ای جهت بیان ارتباط بین منیزیم و اضطراب توصیف شده است از جمله این که منیزیم می تواند فعالیت گیرنده های NMDA موثر در اضطراب را مهار و سبب کاهش فعالیت نورون های دارای تحریک پذیری بالا شود و منیزیم می تواند اضطراب را از طریق کاهش انتشار پیش سیناپسی گلوتامات و افزایش میزان دسترسی به گابا<sup>۲</sup>، کاهش دهد [۱۵، ۱۶].

همچنان که بیشتر اشاره شد از راه های تاثیر منیزیم بر اضطراب، مهار گیرنده های NMDA گلوتاماتی می باشد و از آنجایی که اسکوپولامین توانست از اثر منیزیم ممانعت نماید نشان از تعامل احتمالی سیستم کولینرژیک با گلوتاماترژیک می باشد. همکاری سیستم موسکارینی کولینرژیک و گیرنده های NMDA هیپوکمپ پشتی توسط پیری و همکاران (۲۰۱۰) بررسی و نشان داده شد بین این دو سیستم تعامل پیچیده ای وجود دارد که موید نتایج این مطالعه می باشد [۱۹].

از سوی دیگر نشان داده شده که تغییر رفتار شبه اضطرابی در پاسخ به آنتاگونیست گیرنده موسکارینی بیانگر این است که در شرایط فیزیولوژیک، گیرنده های موسکارینی هیپوکامپ پشتی در رفتار اضطرابی حیوان نقش دارند [۶]، بر این اساس، جهت بررسی نقش گیرنده های موسکارینی سیستم کولینرژیک در خاصیت ضد اضطرابی نانو اکسید منیزیم، از اسکوپولامین (آنتاگونیست گیرنده های موسکارینی) استفاده شد. نتایج نشان داد که اسکوپولامین، سبب کاهش اثرات ضد اضطرابی نانو اکسید منیزیم می گردد. اسکوپولامین به راحتی از سدخونی مغزی عبور نموده و سبب مهار غیرانتخابی گیرنده های

<sup>1</sup> N-Methyl-D-Aspartate

<sup>2</sup> Gamma Aminobutyric Acid (GABA)



**نمودار ۴-** مقایسه تزریق توام نانوذرات اکسید منیزیم و سیکلوفسفامید در حضور اسکوپولامین. هر ستون نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار از میانگین می باشد. \*: تفاوت معنی دار با گروه سالین با  $p < 0/05$ ;  $^+$  تفاوت معنی دار با گروه دریافت کننده اسکوپولامین بعلاوه نانوذرات اکسید منیزیم همان دوز با  $p < 0/05$  (تعداد حیوانات در هر گروه ۷ عدد می باشد).

مشاهده شد اثرات تعدیلی و کاهش اثر دو دارو بر یکدیگر بوده است. بدین ترتیب دو دارو اثر تعدیل کنندگی بر یکدیگر دارند. از آنجایی که این مطالعه برای اولین بار مورد بررسی قرار گرفته است، شواهد مشابهی برای توجیه و تفسیر آن مشاهده نشد اما با توجه به تغییر بیان و عملکرد گیرنده های موسکارینی در مثانه موش های در معرض سیکلوفسفامید و همچنین استفاده از اسکوپولامین در کنترل تهوع و استفراغ در بیماران سرطانی درمان شده با داروهای شیمی درمانی [۲۰]، به نظر می رسد این دو سیستم با یکدیگر تعامل داشته و عملکرد آنها تغییر می یابد. اثبات این موضوع، نیازمند مطالعات بیشتری می باشد.

در ادامه جهت بررسی دقیق مکانیسم اثر داروها و تأیید نقش سیستم کولینرژیک در تجویز توام نانوذرات اکسید منیزیم و سیکلوفسفامید، این دو دارو در حضور اسکوپولامین تزریق شدند. نتایج نشان داد با افزایش مقدار نانوذرات، اثر اسکوپولامین در رفتارهای اضطرابی کاهش یافت. پس به نظر می رسد گیرنده های موسکارینی سیستم کولینرژیک بر عمل ضد اضطرابی نانوذرات اکسید منیزیم اثر گذار می باشد. یافته های پیشین تأیید کننده اهمیت سیستم کولینرژیک در فرآیند اضطراب می باشد [۱۲، ۱۹]؛ و به نظر می رسد منیزیم

کار می رود به صورت تجویز منفرد وجود دارد. تحقیقات کیتامورا<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۵) بر اساس استفاده توام سیکلوفسفامید با سایر داروهای ضد سرطان مانند دوکسوروبیسین نشان داد که می توانند در ایجاد اضطراب موثر باشند [۳].

اهمیت این موضوع از آنجاست که بیماران سرطانی خود تجربه اضطرابی دارند و شیمی درمانی با داروهای مذکور می تواند شرایط را برای بیماران بدتر کند. لذا یافتن داروی مکمل کاهش اضطراب در کنار سیکلوفسفامید، ضروری است. نتایج ما نشان داد که نانو اکسید منیزیم قادر به کاهش اثر اضطراب زایی سیکلوفسفامید است. در مورد کاربرد توام این دو دارو مطالعه چندانی صورت نگرفته است. با توجه به نقش ضد اضطرابی منیزیم از طریق تأثیر بر سیستم گلوتامات و یا گابا و یا از طریق مهار محور هیپوتالاموس هیپوفیز و آدرنال و یا با برانگیختن پروسه های آنتی اکسیدانی احتمالاً می تواند با اثرات اضطراب زایی سیکلوفسفامید مقابله کند [۱۵، ۱۶].

نتایج حاصل از اثر سیکلوفسفامید در حضور اسکوپولامین، نشان داد که علی رغم اثر اضطراب زایی هر دو به تنهایی، سیکلوفسفامید نتوانست اثر اضطراب زایی خود را به طور کامل در حضور آنتاگونیست گیرنده های موسکارینی نشان دهد و آنچه

<sup>1</sup> Kitamura

## سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مادی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز صورت گرفته است. از خانم مژگان ترابی بخاطر مساعدت ایشان در انجام امور آزمایشگاهی کمال تشکر را داریم.

## ملاحظات مالی

کلیه هزینه های مربوط به این مطالعه از محل گرانت سال ۱۳۹۷ دکتر مهناز کسمتی متعلق به بودجه دانشگاه شهید چمران اهواز پرداخت شده است.

## تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

## نقش نویسندگان

م. ک: طراحی ایده، نظارت بر انجام مطالعه و نوشتن مقاله؛ الف.ر: انجام مطالعه، آنالیز داده ها و نوشتن مقاله.

## فهرست منابع

- [1] Pakin DM, The global health burden of infection-associated cancers in the years 2002. *Int J Cancer* 118 (2006) 3030-3044.
- [2] Noori-Dalooi MR, Zekri A, Genetic instability and centrosome abnormality in cancer. *Med Sci* 24 (2014) 125-135.
- [3] Kitamura Y, Hattori S, Yoneda S, Watanabe S, Kanemoto E, Sugimoto M, Kawai T, Machida A, Kanzaki H, Miyazaki I, Asanuma M, Sendo T, Doxorubicin and cyclophosphamide treatment produces anxiety like behavior and spatial cognition impairment in rats. *Behav Brain Res* 292 (2015) 184-193.
- [4] Sakuma Y, Pfaff DW, LH-RH in the mesencephalic central grey can potentiate lordosis reflex of female rats. *Nature* 283 (1980) 566-567.
- [5] Sanford LD, Yang L, Tang X, Dong E, Ross RJ, Morrison AR, Cholinergic regulation of the central nucleus of the amygdala in rats: effects of local microinjections of cholinomimetics and cholinergic antagonists on arousal and sleep. *Neuroscience* 141 (2006) 2167-2176.
- [6] Wall PM, Flinn J, Messier C, Infralimbic muscarinic M receptors modulate anxiety-like behavior and spontaneous working memory in mice.

بخشی از عملکرد ضد اضطرابی خود را به واسطه دخالت گیرنده های موسکارینی کولینرژیک انجام داده و سیکلوفسفامید نیز تعامل پیچیده ای با این سیستم دارد. اما از آنجایی که در کنار تاثیر داروهای نانو اکسید منیزیم و سیکلوفسفامید و اسکوپولامین فعالیت حرکتی، به عنوان شاخص متمایز کننده، کاهش یافت به نظر می رسد که این اثر حاصل تاثیر داروها بر سیستم های گلوتاماترژیک و کولینرژیک باشد که معمولاً نقش آن ها بر فعالیت حرکتی پیشتر نشان داده شده است [۱۹] و می توان گفت بخشی از اثر ضد اضطرابی و یا اضطراب زایی داروهای مذکور مربوط به تغییر فعالیت حرکتی آن ها می باشد. با این وجود، جهت ارزیابی دقیق تر اضطراب بهتر است از تست های اضطراب سنجی که مستقل از فعالیت حرکتی هستند استفاده نمود.

## نتیجه گیری

در نهایت با توجه به نتایج این مطالعه و مطالعات پیشین می توان گفت که در مدل موشی، نانو اکسید منیزیم به عنوان یک مکمل مناسب در کنار سیکلوفسفامید اثرات اضطرابی آن را تا حدودی تخفیف می دهد.

- [7] Młyniec K, Gawel M, Doboszevska U, Starowicz G, Pytko K, Davies CL, Budziszewska B, Essential elements in depression and anxiety. *Part II Pharmacol Rep* 67 (2015) 187-194.
- [8] Sartori SB, Whittle N, Hetzenauer A, Singewald N, Magnesium deficiency induces anxiety and HPA axis dysregulation: modulation by therapeutic drug treatment. *Neuropharmacology* 62 (2012) 304-312.
- [9] Ema M, Gamo M, Honda K, Developmental toxicity of engineered nanomaterials in rodents. *Toxicol App Pharmacol* 299 (2016) 47-52.
- [10] Van Rooy I, Cakir-Tascioglu S, Hennink WE, Storm G, Schiffelers RM, Mastrobattista E, In vivo methods to study uptake of nanoparticles into the brain. *Pharm Res* 28 (2011) 456-471.
- [11] Kesmati M, Konani M, Torabi M, Khajehpour L, Magnesium oxide nanoparticles reduce anxiety induced by morphine withdrawal in adult male mice. *Physiol Pharmacol* 20 (2016) 197-205.
- [12] Falsafi SK, Deli A, Hoger H, Pollak A, Lubec G, Scopolamine administration modulates muscarinic, nicotinic and NMDA receptor systems. *Pub Lib Sci* 7 (2012) e32082.
- [13] Laarakker MC, van Lith HA, Ohl F, Behavioral characterization of A/J and C57BL/6J mice using a multidimensional test: association between blood plasma and brain magnesium-ion concentration with

- anxiety. *Physiol Behav* 102 (2011) 205–219.
- [14] Poleszak E, Szewczyk B, Kedzierska E, Wlacz P, Pilc A, Nowak G, Antidepressant- and anxiolytic-like activity of magnesium in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 78 (2004) 7-12.
- [15] Coan EJ, Collingridge GL, Magnesium ions block an N-methyl-D-aspartate receptor-mediated component of synaptic transmission in rat hippocampus. *Neurosci Lett* 53 (1985) 21–26.
- [16] Johnson PL, Shekhar A. Panic-prone state induced in rats with GABA dysfunction in the dorsomedial hypothalamus is mediated by NMDA receptors. *J Neurosci* 2626 (2006) 7093–7104.
- [17] Hajhosseini S, Setorki M, Hooshmandi Z, The antioxidant activity of Beta vulgaris leaf extract in improving scopolamine-induced spatial memory disorders in rats. *Avicenna J Phytomed* 7(2017) 417-425.
- [18] Smythe JW, Bhatnagar S, Murphy D, Timothy C, Costall B, The effects of intrahippocampal scopolamine infusions on anxiety in rats as measured by the black–white box test. *Brain Res Bulletin* 45 (1998) 89-93.
- [19] Piri M, Nasehi M, Heidari N, Shahin M A, Zarindast MR, Muscarinic and NMDA receptors interaction in the dorsal hippocampus of rats in the elevated plus-maze anxiety test. *Daneshvar Med* 18 (2010) 9-16.
- [20] Giglio D, Ryberg AT, To K, Delbro DS, Tobin G, Altered muscarinic receptor subtype expression and functional responses in cyclophosphamide induced cystitis in rats. *Auton Neurosci* 122 (2005) 9-20.



## Research paper

**The effect of magnesium oxide nanoparticles on cyclophosphamide induced anxiety and involvement of muscarinic receptors in male mice**Mahnaz Kesmati<sup>1\*</sup>, Elham Rahimifar*Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University Ahvaz, Ahvaz, Iran*

Received: 29 December 2019

Accepted: 8 February 2020

**Abstract**

**Background and aims:** The anxiolytic effect of magnesium oxide nanoparticles has been determined, but its effect on the reduction of anxiety caused by cyclophosphamide is unknown. The aim of this study was to evaluate the effect of magnesium oxide nanoparticles on the anxiety resulted from cyclophosphamide and interaction of cholinergic muscarinic receptor activity with it in the adult male mice.

**Methods:** In this experimental study, 84 adult male NMRI mice (25-35 g) were divided into 12 (n=7) groups including: control (saline, 5 ml/kg), magnesium oxide nanoparticles (2.5 and 5 mg/kg), cyclophosphamide (50 mg/kg), magnesium oxide nanoparticles 2.5 or 5 mg/kg with cyclophosphamide 50, scopolamine (1mg/kg), scopolamine 1 with magnesium oxide nanoparticles 2.5 or 5 mg/kg, scopolamine 1 with cyclophosphamide 50, scopolamine 1 and magnesium oxide nanoparticles 2.5 or 5 mg/kg and cyclophosphamide 50. All drugs were injected intraperitoneally and anxiety and motor activity of animals were evaluated by the elevated plus maze apparatus.

**Results:** Magnesium oxide nanoparticles (2.5 and 5) prevented the anxiety of cyclophosphamide (50), while it has no effect on motor activity. The anxiolytic effect of magnesium oxide nanoparticle was reduced in the presence of scopolamine. The effect of cyclophosphamide induced anxiety was reduced in the presence of scopolamine. The preventive effect of magnesium oxide nanoparticle on the anxiety of cyclophosphamide was reduced in the presence of scopolamine.

**Conclusion:** It seems that cholinergic muscarinic receptors interfere in the anxiolytic effect of magnesium oxide nanoparticle alone and in combination with cyclophosphamide.

**Keywords:** Anxiety, Cyclophosphamide, Muscarinic receptor, Nanoparticles, Magnesium oxide

**Please cite this article as follows:**

Kesmati M, Rahimifar E, The effect of magnesium oxide nanoparticles on cyclophosphamide induced anxiety and involvement of muscarinic receptors in male mice. *Iran J Physiol Pharmacol* 3 (2019) 169-177.

\*Corresponding author: m.kesmati@scu.ac.ir (ORCID ID: 0000-0002-0168-6441)