

Evaluation of Nano-Silver on Anxiety-Related Behavior in Rats

Parvin Khodarahmi*

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

Article Info:

Received: 3 May 2015

Accepted: 3 Aug 2015

ABSTRACT

Introduction: Silver nanoparticles (Ag NPs) have been widely used as new potent antimicrobial agents in cosmetic and hygienic products. The silver induced a decrease in the total volume of hippocampal cells and high doses of silver caused cell death. On the other hand, the hippocampus may be an important brain site in the modulation of fear and anxiety. The purpose of this study was to investigate the possible protective role of Ag NPs on anxiety-like Behavior in rats. **Materials and Methods:** Forty male Wistar rats (200-250 gr) were divided into five groups of eight rats in control group and treatment groups with different doses. Control group rats were injected saline and treatment groups were injected Ag NPs at doses of 50, 250, 500, and 1000 mg/kg/day intraperitoneal (IP). After two weeks of treatment, the anxiety-related behavior in the rats was examined by the plus maze test. **Results:** Our results showed that Ag NPs at dose of 1000 mg/kg/day after 14 days significantly decreased the percentage of open arm duration and the percentage of open arm entries but did not affect the locomotor activities. **Conclusion:** These data suggest that IP application of Ag NPs causes an anxiogenic response.

Key words:

1. Nanoparticles
2. Silver
3. Anxiety
4. Rats

* **Corresponding Author:** Parvin Khodarahmi

E-mail: Khodarahmiparvin@yahoo.com



بررسی نانو-نقره بر روی رفتارهای مرتبط با اضطراب در موش‌های صحرایی

پروین خدارحمی*

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

اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۱۲ مرداد ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۱۳ اردیبهشت ۱۳۹۴

چکیده

مقدمه: نانو ذرات نقره به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان عوامل ضد میکروبی قوی در محصولات آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شوند. نقره باعث کاهش در حجم کلی سلول‌های هیپوکامپ می‌گردد و دوزهای بالای نقره سبب مرگ سلولی می‌گردد. از سوی دیگر هیپوکامپ ممکن است یک جایگاه مهم مغز در تعدیل ترس و اضطراب باشد. هدف از این مطالعه بررسی نقش احتمالی محافظتی نانو ذرات نقره بر روی رفتارهای شبه اضطرابی در موش‌های صحرایی بود. **مواد و روش‌ها:** ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۲۵۰-۲۰۰ گرم) به پنج گروه هشت‌تایی در گروه‌های مختلف کنترل و تیمار با دوزهای مختلف تقسیم شدند. موش‌های گروه کنترل تحت تزریق سالین و گروه‌های تیمار به‌صورت درون صفاقی تحت تزریق نانو ذرات نقره در دوزهای ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن/روزانه قرار گرفتند. دو هفته پس از تیمار، رفتارهای مرتبط با اضطراب در موش‌های صحرایی توسط آزمون ماز به‌علاوه‌ای شکل بررسی شد. **یافته‌ها:** نتایج ما نشان داد که نانو ذرات نقره در دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن/روزانه پس از ۱۴ روز، درصد مدت زمان ماندن در بازوی باز و درصد ورودها به بازوی باز را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ولی فعالیت‌های حرکتی را تحت تأثیر قرار نداد. **نتیجه‌گیری:** این نتایج پیشنهاد می‌کنند که کاربرد داخل صفاقی نانو ذرات نقره سبب پاسخ اضطراب زایی می‌گردد.

کلید واژه‌ها:

۱. نانو ذرات
۲. نقره
۳. اضطراب
۴. موش‌های صحرایی

* نویسنده مسئول: پروین خدارحمی

آدرس الکترونیکی: Khodarahmiparvin@yahoo.com

مقدمه

نانو ذرات نقره (Ag NPs) به عنوان عوامل ضد میکروبی عمل می کنند و به طور فزاینده ای در محصولات مختلف استفاده می شوند، در نتیجه نگرانی هایی در مورد مواجهه انسان و محیط زیست با این مواد وجود دارد (۱). هیچ اطلاعاتی در مورد اثرات طولانی مدت حاصل از مواجهه شدن با این مواد وجود ندارد (۲). در مطالعه ای که به تازگی انجام گردیده، نشان داده شده است که نقره می تواند با تکثیر و تمایز سلول عصبی تداخل داشته باشد (۳). علاوه بر این مشخص شده که تیمار با دوز کم نقره در زمان جنینی باعث تغییرات سیناپسی گردیده و در بزرگسالی باعث تغییرات رفتاری و تغییر در انتقال دهنده های عصبی^۱ دوپامین و سروتونین می گردد (۴). این ناقلین عصبی با یادگیری و ایجاد اضطراب ارتباط دارند و در معرض قرار گرفتن با این فلزات سنگین موجب افزایش رفتار اضطرابی در جوندگان بالغ می شود (۵، ۶).

در معرض قرار گرفتن جنین موش با نقره در طولانی مدت، رسوب این فلز در بسیاری از ساختارهای سیستم عصبی را به همراه دارد. عواقب تأثیر نقره بر سیستم عصبی با اندازه گیری حجم در حال توسعه هیپوکامپ مغز موش نشان داده است که نقره باعث کاهش حجم کل سلول های هر می ناحیه هیپوکامپ می شود. دوزهای بالای نقره باعث نکروز می گردد، در حالی که غلظت های پایین تر اثرات سیتوتوکسیک دارد. درمان با نقره منجر به تجمع لیزوزوم در مدل وابسته به دوز می شود (۷).

مطالعات نشان داده اند که هیپوکامپ یک جایگاه مهم برای اثرات فعالیت های اضطرابی شناخته شده است (۸) و نانو ذرات نقره قابلیت عبور از سد خونی - مغزی را داشته و منجر به آپوپتوز در سلول های در معرض می گردد (۹). به علاوه نانو ذرات نقره تزریق شده، تأثیر منفی بر سلول های هیپوکامپ و بیان ژن ها داشته و منجر به مرگ برنامه ریزی شده سلولی می گردد (۱۰). از طرف دیگر، آپوپتوز منجر به کاهش تعداد نورون ها در هیپوکامپ و تخریب عملکرد اجرایی آنها می شود (۱۱). لذا در این مطالعه اثر نانو ذرات نقره بر رفتارهای اضطرابی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

حیوانات

در طی این تحقیق تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم از مؤسسه رازی ایران خریداری شد. موش ها در یک اتاق مخصوص با درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتی گراد، با رطوبت نسبی و در یک سیکل ۲۴ ساعته که ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی داشت، نگهداری شدند و به آب و غذای استاندارد کافی دسترسی داشتند.

تیمار دارو

نانو ذرات نقره با اندازه ۲۰ نانومتر از شرکت US Research Nanomaterials خریداری شد. در ابتدا غلظت های مورد نظر از

کلئید نانو نقره به وسیله آب مقطر دیونیزه و با روش سری رقت^۲ تهیه شده (۱۲) و سپس در شرایط استریل تزریق انجام گردید. روش تزریق به صورت درون صفاقی و میزان تزریق با حجم هر دوز ۱ سی سی بود. موش ها به ۵ گروه هشت تایی تقسیم گردیدند: یک گروه سالین و چهار گروه دیگر، تیمار نانو ذرات نقره در دوزهای ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm را در طی ۱۴ روز متوالی دریافت کردند. تیمار دارو در ساعت معینی از روز (۱۲-۱۰ قبل از ظهر) انجام می شد. سپس بعد از ۱۴ روز فعالیت اضطرابی به وسیله آزمون رفتاری ماز به علاوه ای شکل (EPM)^۳ مورد ارزیابی قرار گرفتند.

آزمون رفتاری ماز به علاوه ای شکل

برای سنجش اضطراب از مدل رفتاری ماز به علاوه ای شکل استفاده شد. این ابزار بر اساس دو غریزه حس جستجوگرانه جوندگان و احتراز از محیط های باز و روشن طراحی شده است. در این روش، حیوان بیشتر وقت خود را در بازوهای باز گذرانده و تمایل بیشتری به گذراندن در این بازوها را دارد.

این ابزار از جنس چوب و دارای چهار بازو به شکل علامت مثبت (+) است. ابعاد بازوی باز و بسته 50×10 سانتی متر می باشد. دو طرف و انتهای بازوی بسته، دیوارهای به بلندی ۴۰ سانتی متر داشته و برای جلوگیری از افتادن موش های صحرایی در دو طرف و انتهای بازوی باز لبه ای به ارتفاع ۱ سانتی متر از جنس شیشه نصب شده است. چهار بازو به یک محدوده مرکزی به ابعاد 10×10 سانتی متر منتهی می شوند. ماز توسط پایه هایی در ارتفاع ۵۰ سانتی متری از سطح زمین قرار می گیرد.

موش ها درون محدوده مرکزی و رو به یک بازوی باز قرار می گرفتند. نور مناسب توسط یک لامپ ۱۰۰ واتی که در ارتفاع ۱۲۰ سانتی متری از مرکز ماز قرار داشت، تأمین می شد. در مدت ۵ دقیقه ای که حیوان آزادانه در قسمت های مختلف ماز حرکت می کرد، پارامترهای زیر به روش مشاهده اندازه گیری می شد.

- تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی باز می شود.
- تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی بسته می شود.
- مدت زمانی که حیوان در بازوی باز باقی می ماند.
- مدت زمانی که حیوان در بازوی بسته باقی می ماند.

منظور از ورود به بازوی باز یا بسته هنگامی است که هر چهار پای حیوان در بازوی مورد نظر قرار می گرفت. زمان گذرانده شده در هر بازو نیز بر همین اساس محاسبه شده است. برای هر حیوان درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز از طریق فرمول زیر محاسبه شده است:

$$100 \times \frac{\text{مدت زمان گذرانده شده در بازوی باز}}{\text{مدت زمان گذرانده شده در بازوی باز} + \text{مدت زمان گذرانده شده در بازوی بسته}} = \text{درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز}$$

$$100 \times \frac{\text{تعداد ورود به بازوی باز}}{\text{تعداد ورود به بازوی باز} + \text{تعداد ورود به بازوی بسته}} = \text{درصد تعداد ورود به بازوی باز}$$

^۱ Neurotransmitters

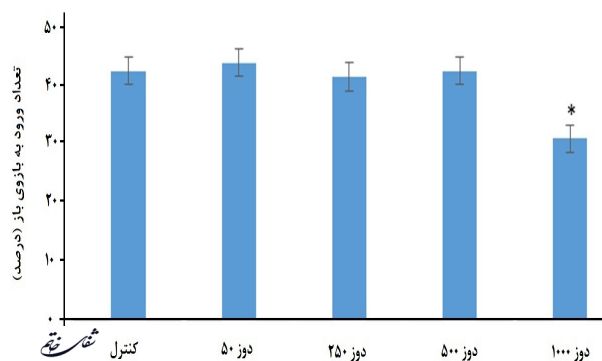
^۲ Serial dilution

^۳ Elevated plus-maze

۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم $8/07 \pm 18/33$ ، در دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم $8/06 \pm 19/25$ ، در دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم $2/32 \pm 19/64$ ، در دوز ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم $15/78 \pm 18/25$ می باشد. آزمون آماری واریانس یک طرفه کاهش معنی دار درصد زمان گذرانده در بازوی باز را در دوز ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نشان داد که نشان دهنده افزایش رفتارهای شبه اضطرابی در گروه مورد مطالعه است ($F(4, 35) = 3/059, P < 0/05$).

نمودار ۲ تزریق نانو ذرات نقره در دوزهای ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و به حجم ۱ میلی لیتر به مدت ۱۴ روز را بر تعداد ورود به بازوی باز نشان می دهد. میانگین درصد تعداد ورود به بازوی باز در گروه کنترل $42/61 \pm 7/21$ ، در دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم $44 \pm 8/01$ ، در دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم $41/62 \pm 6/94$ ، در دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم $42/60 \pm 2/70$ ، در دوز ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم $31 \pm 7/70$ می باشد. آزمون آماری واریانس یک طرفه کاهش درصد ورود به بازوی باز را در دوز ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نشان داد که نشان دهنده افزایش رفتارهای شبه اضطرابی در گروه مورد مطالعه است ($F(4, 35) = 4/863, P < 0/05$).

نمودار ۳ تزریق نانو ذرات نقره در دوزهای ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و به حجم ۱ میلی لیتر به مدت ۱۴ روز را بر درصد فعالیت حرکتی نشان می دهد. آنالیز نتایج توسط آزمون آماری واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق نانو ذرات نقره در هیچ یک از دوزهای مورد مطالعه بر درصد فعالیت حرکتی تأثیری نداشت ($P = 0/06$).



نمودار ۲- بررسی اثر تزریق روزانه نانو ذرات نقره در دوزهای ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۴ روز بر میانگین درصد تعداد ورود به بازوی باز در روز آزمون. نتایج به صورت $Mean \pm SEM$ بیان شده است. * نشان دهنده $P < 0/05$ در مقایسه با گروه کنترل است ($n=8$).

لازم به ذکر است در صورتی که میزان فعالیت حرکتی تغییر معنی داری نداشته باشد، افزایش معنی دار این دو پارامتر نشان دهنده کاهش اضطراب در این آزمون است.

البته درصد فاکتور OAT^4 نسبت به درصد فاکتور OAE^5 دارای حساسیت کمتری در ثبت رفتارهای اضطرابی و یا ضد اضطرابی حیوان است. مدت زمان گذرانده شده در بازوی باز به علاوه مدت زمان گذرانده شده در بازوی بسته نشان دهنده میزان فعالیت حرکتی است (۱۳).

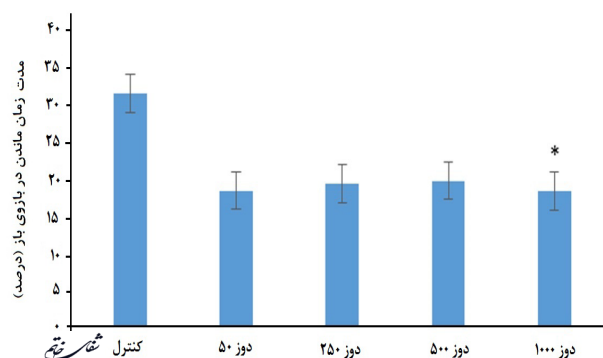
تجزیه و تحلیل داده ها

نتایج به دست آمده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (SPSS 22) و آزمون تعقیبی توکی^۶ تجزیه و تحلیل شد. تمام نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد ($Mean \pm SEM$) ثبت گردید. به منظور تعیین وجود اختلاف معنی دار بین گروه های آزمایشی اختلاف در سطح $P < 0/05$ به عنوان تفاوت معنی دار در نظر گرفته شد.

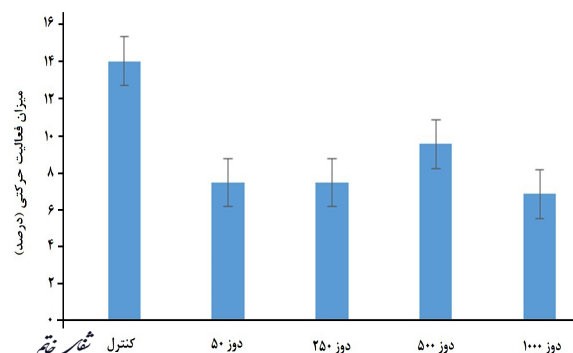
یافته ها

بررسی اثر تزریق نانو ذرات نقره به صورت درون صفاقی بر رفتارهای اضطرابی

نمودار ۱ تزریق نانو ذرات نقره با دوزهای ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و به حجم ۱ میلی لیتر به مدت ۱۴ روز را بر درصد زمان ماندن در بازوی باز نشان می دهد. میانگین درصد زمان ماندن در بازوی باز در گروه کنترل $31/44 \pm 5/80$ ، در دوز



نمودار ۱- بررسی اثر تزریق روزانه نانو ذرات نقره در دوزهای ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۴ روز بر میانگین درصد زمان ماندن در بازوی باز در روز آزمون. نتایج به صورت $Mean \pm SEM$ بیان شده است. * نشان دهنده $P < 0/05$ در مقایسه با گروه کنترل است ($n=8$).



نمودار ۳- بررسی اثر تزریق روزانه نانو ذرات نقره در دوزهای ۵۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۴ روز بر میانگین درصد فعالیت حرکتی در روز آزمون. نتایج به صورت $Mean \pm SEM$ بیان شده است. درصد فعالیت حرکتی در هیچ یک از گروه ها در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نبود ($n=8$).

⁴ Open arm times

⁵ Open arm entries

⁶ Tukey s' test

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از این مطالعه ارزیابی اثر نانو ذرات نقره بر فعالیت اضطرابی می‌باشد. نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان داد که در تیمار با دوز بالای نانو ذرات نقره (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) میزان اضطراب افزایش می‌یابد. این نتایج نشان‌دهنده این است که نانو ذرات نقره منجر به تخریب سلول‌های در معرض می‌شود.

همچنین نتایج ما نشان داد که نانو ذرات نقره موجب کاهش درصد زمان گذرانده در بازوی باز و کاهش درصد تعداد ورود به بازوی باز می‌شود ولی بر فعالیت حرکتی اثری ندارد که نشان‌دهنده اثر اضطراب زایی نانو ذرات نقره می‌باشد.

Tang و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که تزریق زیرپوستی نانو ذرات نقره به موش صحرایی باعث عبور این ذرات از سد خونی-مغزی و تجمع آن‌ها در مغز می‌شود (۹). پژوهش‌های زیادی اثرات سمی نانو ذرات نقره را با تغییر در بیان ژن‌ها نشان داده‌اند. یک پژوهش به‌وسیله Kim و همکاران نشان داد که نانو ذرات نقره باعث سیتوتوکسیسی در اندام‌ها می‌شود (۱۴).

تغییر بیان ژن‌های مختلف تحت تأثیر نانو ذرات نقره در مناطق مختلف مغز توسط Rahman و همکاران مطرح شده است. نانو ذرات نقره تزریق شده تأثیر منفی بر سلول‌های هیپوکامپ و بیان ژن‌ها داشته و منجر به مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌شود، به‌طوری‌که نانو ذرات نقره موجب تولید ROS^۷ از راه یک مسیر متابولیکی و القای استرس اکسیداتیو و در نهایت منجر به آسیب اکسیداتیو DNA می‌شود (۱۵). Xia و همکاران نشان دادند که تولید بالای ROS بر دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی غلبه می‌کند و سبب کاهش عملکرد میتوکندری می‌گردد و این وقایع استرس اکسیداتیو را افزایش داده و منجر به آسیب سلولی از جمله آپوپتوز می‌شود (۱۶).

در مطالعه‌ای که بر روی گورخر ماهی^۸ با تیمار نقره انجام شد، نشان داده شد که میزان دوپامین و ۵-هیدروکسی تریپتامین^۹ در مغز افزایش می‌یابد و این تغییرات نمی‌تواند توسط تغییر در

منابع

سطوح انتقال‌دهنده عصبی توضیح داده شود، بلکه نشان‌دهنده افزایش فعالیت پیش سیناپسی برای این دو انتقال‌دهنده عصبی می‌باشد. یافته‌ها نشان می‌دهند که قرارگیری در معرض نقره در زمان جنینی منجر به تغییرات طولانی مدت در عملکرد سیناپسی سلول‌های مربوط به دوپامین و ۵-هیدروکسی تریپتامین می‌شود که این دو ماده نقش مهمی در پاداش و اضطراب دارند. علاوه بر این در معرض قرار گرفتن گورخر ماهی با نقره نشان داد که فعالیت اضطرابی تغییر می‌کند و درصد شنا کردن نیز افزایش می‌یابد. از آنجا که درمان‌های مشابه نشان می‌دهند که یک الگوی مداوم از اختلالات عصبی-رفتاری با تیمار نقره به وجود می‌آید، می‌توان بیان نمود که نقره یک ترانژن عصبی-رفتاری است (۴).

اهمیت هیپوکامپ برای رفتارهای اضطرابی به‌خوبی مشخص شده است (۸). از طرفی آپوپتوز و تخریب نورونی نقش کلیدی در بسیاری از انواع بیماری‌های سیستم عصبی مرکزی بازی می‌کنند. به عبارت دیگر آپوپتوز منجر به کاهش تعداد نورون‌ها در هیپوکامپ و تخریب عملکرد اجرایی آن‌ها می‌گردد (۱۱).

نتیجه‌گیری دیگر ما بیشتر توسط این یافته‌ها به دست آمده است که قرار گرفتن در معرض نوروٹوکسین‌ها مانند فلزات سنگین، باعث افزایش اضطراب و عملکرد رفتارهای مرتبط با اضطراب می‌شود (۱۹-۱۷). نکته مهم دیگر اینکه نتیجه مسمومیت با سم نقره منجر به فعالیت مسیره‌های ۵-هیدروکسی تریپتامین و تغییرات دایمی در اضطراب می‌شود (۲۰).

بنابراین مرگ سلولی آپوپتوزی که در نهایت منجر به سمیت عصبی پس سیناپسی می‌گردد، می‌تواند باعث تخریب نورونی گردد (۲۱). بنابراین مطالعه حاضر نشان می‌دهد نانو ذرات نقره از راه تخریب سلول‌های عصبی و ایجاد آپوپتوز توانسته است باعث ایجاد رفتارهای اضطرابی شود. مطالعه در مورد چگونگی این فرایندها نیاز به تحقیقات آینده دارد.

تشکر و قدردانی

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

1. Wijnhoven SWP, Peijnenburg WJGM, Herberts CA, Hagens WI, Oomen AG, Heugens EHW, et al. Nano-silver-a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*. 2009; 3(2): 109-38.

2. Lansdown ABG. Critical observations on the neurotoxicity of silver. *Crit Rev Toxicol*. 2007; 37(3): 237-50.

3. Powers CM, Wrench N, Ryde IT, Smith AM, Seidler FJ,

⁷ Reactive oxygen species

⁸ Zebrafish

⁹ 5-Hydroxytryptamine (5-HT)

Slotkin TA. Silver impairs neurodevelopment: studies in PC12 cells. *Environ Health Perspect*. 2010; 118(1): 73-9.

4. Powers CM, Levin ED, Seidler FJ, Slotkin TA. Silver exposure in developing zebrafish produces persistent synaptic and behavioral changes. *Neurotoxicol Teratol*. 2011; 33(2): 329-32.

5. Maia CSF, Lucena GMRS, Correa PBF, Serra RB, Matos RWM, Menezes FC, et al. Interference of ethanol and methylmercury in the developing central nervous

system. *Neurotoxicology*. 2009; 30(1): 23-30.

6. Moreira EG, Vassilieff I, Vassilieff VS. Developmental lead exposure: behavioral alterations in the short and long term. *Neurotoxicol Teratol*. 2001; 23(5): 489-95.

7. Rungby J. An experimental study on silver in the nervous system and on aspects of its general cellular toxicity. *Dan Med Bull*. 1990; 37(5): 442-9.

8. Bannerman DM, Sprengel R, Sanderson DJ, McHugh SB, Rawlins JN, Monyer H, et al. Hippocampal synaptic plasticity, spatial memory and anxiety. *Nat Rev Neurosci*. 2014; 15(3): 181-92.

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 Nanosci 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 expression to silver-25 nanoparticles. *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. Naghsh N, Safari M, Hajmehrabani P. Investing the effect of silver nanoparticles on *E.coli* growth. *Qom Univ Med Sci*. 2012; 6(2): 65-8.

13. Khodarahmi P, Sarahroodi Sh. The effect of Benzodiazepine on anxiety and interaction between benzodiazepine and histamine in elevated plus-maze model of the rats. *NCMB J*. 2013; 3(11): 55-61.

14. Kim YS, Kim JS, Cho HS, Rha DS, Kim JM, Park JD, 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.

15. 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 expression to silver-25 nanoparticles. *Toxicol Lett*. 2009; 187(1): 15-21.

16. Xia T, Kovochich M, Brant J, Hotze M, Sempf J, Oberley T, 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.

17. Maia CSF, Lucena GMRS, Correa PBF, Serra RB, Matos RWM, Menezes FC, et al. Interference of ethanol and methylmercury in the developing central nervous system. *Neurotoxicology*. 2009; 30(1): 23-30.

18. Moreira EG, Vassilieff I, Vassilieff VS. Developmental lead exposure: behavioral alterations in the short and long term. *Neurotoxicol Teratol*. 2001; 23(5): 489-95.

19. Pitzer M, Schmidt MH. Neonatal exposure to fenoterol and betamethasone: effects on the behavioral development in the rat. *Intl J Neurosci*. 2009; 119(10): 1548-71.

20. Kranz GS, Kasper S, Lanzenberger R. Reward and the serotonergic system. *Neuroscience*. 2010; 166(4): 1023-35.

21. 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.