



## Types of biosensors and their application in the detection of microorganisms

Murtaza Haidary<sup>1,2\*</sup>

Medical research and Technology center, khatam Al-Nabieen university, Kabul, Afghanistan.

2. Department of Biology and Microbiology, khatam Al-Nabieen university, Kabul, Afghanistan.

Corresponding author: Murtaza Haidary. sadramurtaza@gmail.com Mobile: 0093707927247

### Abstract

Biosensors are devices for measuring the amount of analyte and chemical and biological reactions, Introduction: Substance use disorders, especially those related to nicotine, pose a major public health issue, with adolescents being particularly susceptible to their negative impacts. This study investigated the potential anxiolytic and antidepressant properties of biotin in reducing the behavioral and neurobiological effects linked to nicotine withdrawal in adolescent rats.

Materials and Methods: Sixty male Sprague-Dawley rats were administered nicotine followed by a withdrawal phase. Behavioral assessments were conducted using the open-field test, the elevated plus-maze test, and the forced-swimming test to evaluate anxiety and depressive behaviors post-withdrawal.

Results: Findings indicated that nicotine withdrawal exacerbates symptoms of anxiety and depression. Treatment with biotin, especially at higher doses, significantly mitigated these withdrawal-related behavioral changes.

Discussion: The results of this study imply that biotin may hold significant therapeutic promise for reducing the negative effects associated with nicotine withdrawal, particularly anxiety and depression. Considering the intricate neurobiological mechanisms involved in withdrawal symptoms, biotin's capacity to influence key signaling pathways, including serotonin metabolism, neuroinflammation, and oxidative stress, could offer a comprehensive treatment strategy.

**Keywords:** adolescents, nicotine withdrawal, anxiety, depression, cortex.



## بررسی اثرات بیوتین بر اضطراب و افسردگی ناشی از ترک نیکوتین در موش‌های صحرائی نوجوان

مرتضی حیدری<sup>۱،۲\*</sup>

مرکز تحقیقات علوم طبی، پوهنتون خاتم النبیین (ص)، کابل، افغانستان.

دپارتمنت بیولوژی و میکروبیولوژی، پوهنتون خاتم النبیین (ص)، کابل، افغانستان.

نویسنده مسئول: مرتضی حیدری. sadramurtaza@gmail.com شماره تماس: ۰۰۹۳۷۰۷۹۲۷۲۴۷

### چکیده

مقدمه: سوء مصرف مواد، به ویژه مصرف نیکوتین، معضل قابل توجهی در جامعه است و نوجوانان به خصوص در برابر عوارض جانبی آن آسیب پذیر می‌باشند. این مطالعه به بررسی اثرات بالقوه ضد اضطراب و ضد افسردگی بیوتین در کاهش تغییرات رفتاری مرتبط با ترک نیکوتین در موش‌های صحرائی نوجوان پرداخته است. مواد و روش‌ها: در این تحقیق، ۶۰ سر موش صحرائی نر از نژاد اسپراگ داوولی تحت تزریق نیکوتین قرار گرفتند و سپس ترک نیکوتین را تجربه کردند. پس از این فرآیند، ارزیابی‌های رفتاری شامل میدان باز، پلس میز و شنای اجباری انجام شد تا رفتارهای اضطرابی و افسردگی مورد سنجش قرار گیرد. نتایج: نتایج نشان داد که ترک نیکوتین علائم رفتاری اضطراب و افسردگی را تشدید می‌کند. درمان با بیوتین، به ویژه در دوزهای بالاتر، به طور قابل توجهی این تغییرات رفتاری ناشی از ترک را کاهش می‌دهد. بحث و نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان می‌دهد که بیوتین ممکن است پتانسیل قابل توجهی برای کاهش عوارض جانبی مرتبط با ترک نیکوتین، به ویژه اضطراب و افسردگی داشته باشد. با توجه به مکانیسم‌های عصبی زیست‌شناختی پیچیده‌ای که علائم ترک را زیرساخت قرار می‌دهند، توانایی بیوتین در تعدیل مسیرهای سیگنالینگ حیاتی مانند متابولیسم سروتونین، التهاب عصبی و استرس اکسیداتیو می‌تواند یک رویکرد درمانی چندوجهی ارائه دهد.

واژه‌های کلیدی: نوجوانان، ترک نیکوتین، اضطراب، افسردگی، موش صحرائی.

## ۱. مقدمه

سوء مصرف مواد در نوجوانان به عنوان یک نگرانی حیاتی برای سلامت عمومی جهانی پدیدار شده است (۱)، که نیازمند ارزیابی مجدد اولویت‌های تحقیقاتی است که از لحاظ تاریخی بر الگوهای مصرف مواد در بزرگسالان متمرکز بوده است. شواهد فزاینده‌ای از این تغییر پارادایم با برجسته کردن تغییرات فیزیولوژیکی متمایز در نوروبیولوژی نوجوانان پشتیبانی می‌کند (۲). نوجوانی مرحله رشدی است که با تغییرات غدد درون‌ریز، روانی اجتماعی و عصبی-بیولوژیکی مشخص می‌شود (۳). این تغییرات عصبی رشدی ارتباط نزدیکی با تجلی ویژگی‌های خاص نوجوانان دارد، مانند افزایش تمایل به آزمایش چیزهای جدید و رفتار پرخطر (۴) و شروع آزمایش‌های مواد، به‌ویژه با نیکوتین (۵). قرار گرفتن در معرض نیکوتین در دوران نوجوانی رشد عصبی معمولی را مختل می‌کند و آزادسازی انتقال‌دهنده‌های عصبی مرتبط با مسیر پاداش را تغییر می‌دهد (۶) و در نتیجه منجر به نقایص مداوم شناختی و افزایش حساسیت به اختلالات خلقی می‌شود (۷). قرار گرفتن طولانی‌مدت در معرض نیکوتین در دوران نوجوانی می‌تواند منجر به تغییرات دائمی در سیگنال‌دهی و رفتار عصبی شود که به‌طور بالقوه منجر به آسیب‌پذیری مادام‌العمر در برابر اعتیاد (۲) و تشدید اضطراب و افسردگی، به‌ویژه پس از ترک می‌شود (۸). این وضعیت با اختلال در متابولیسم سروتونین، التهاب، تغییرات در فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و افزایش آسیب

اکسیداتیو در مغز مرتبط است (۹). تا به امروز، چندین رویکرد دواپی برای جلوگیری یا کاهش اثرات منفی وابستگی به نیکوتین و ترک به کار گرفته شده است (۱۰). با این حال، نیاز فوری به یک روش مصئون، قابل تحمل و مؤثر وجود دارد. در این راستا، نقش ویتامین‌ها در تداوی اختلالات عصبی به خوبی ثابت شده است (۱۱).

بیوتین که ویتامین B7 نیز نامیده می‌شود، یک ویتامین رایج محلول در آب است که در غذاهای مختلف یافت می‌شود. این ویتامین به عنوان یک کوانزایم برای کاربوکسیلازهای مهم عمل می‌کند که نقش اساسی در متابولیسم انرژی و سنتز اسیدهای چرب دارند. بیوتین با دوز بالا و درجه دواپی به عنوان یک روش بالقوه برای امراض دمیلینه‌کننده سیستم عصبی مرکزی مانند مولتیپل اسکلروزیس ثانویه مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۲ و ۱۳). از سوی دیگر، کمبود بیوتین می‌تواند منجر به چندین اختلال عصبی از جمله افسردگی، نوسانات خلقی، انسفالوپاتی (۱۴)، آتاکسی، تأخیر رشد، هیپوتونی، تشنج و نقص حسی و حرکتی شود (۱۶). علاوه بر این، بیوتین اثر محافظتی در برابر استرس اکسیداتیو در مغز نشان داده است (۱۷)، به‌ویژه در اختلالات عصبی (۱۸). تحقیقات در مورد اثرات بیوتین بر مواد، به‌ویژه ترک نیکوتین، محدود است. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی اثرات ضد اضطراب و ضد افسردگی بیوتین در موش‌های صحرایی در معرض نیکوتین در دوران نوجوانی و تجربه ترک اعتیاد در بزرگسالی انجام شد.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۱-۲. حیوانات

در این مطالعه، ۶۰ موش صحرایی نر از نژاد اسپراگ داوولی با سن ۲۱ روز پس از تولد (PND 20) از مرکز حیوانات پوهنتون خاتم النبیین (ص) تهیه شد. موش‌ها در گروه‌های ۳ تا ۴ حیوانی در قفس‌های پلکسی روباز قرار گرفتند و در یک محیط کنترل‌شده با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. این موش‌ها تحت یک چرخه نور تا تاریکی ۱۲ ساعته قرار داشتند که در آن، نورها در ساعت ۶ صبح فعال می‌شدند. جیره استاندارد لابراتواری از شرکت جوانه خراسان (مشهد، ایران) تأمین شد که شامل ۲۵٪ الیاف شوینده خنثی، ۱۹٪ پروتئین و ۱۰٪ چربی بود. همچنین، موش‌ها به طور آزادانه به آب آشامیدنی در طول دوره آزمایشی دسترسی داشتند. کلیه مراحل این تحقیق مطابق با راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات تجربیوی (۱۹) انجام شد.

### ۲-۲. روش اجرا

نیکوتین و بیوتین از شرکت Merck KGaA آلمان خریداری شد و در محلول نمکی ۰/۹٪ (محلول کلرید سدیم) حل گردید تا محلول‌های نهایی برای تزریق داخل صفاقی (i.p.) آماده شود. موش‌ها به‌طور تصادفی در شش گروه آزمایشی مستقل تقسیم شدند که هر کدام شامل ۱۰ حیوان بود، به شرح زیر:

گروه ۱ (کنترل): این گروه آب آشامیدنی معمولی دریافت نمود و روزانه به صورت داخل صفاقی محلول نورمال سالین دریافت می‌کردند. گروه ۲

(ترک نیکوتین): موش‌های این گروه روزانه نیکوتین با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق می‌شدند (۹). گروه‌های ۳ تا ۵: موش‌های این گروه‌ها بیوتین را از طریق گاوژ خوراکی در سه دوز مختلف ۱۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۳۰ دقیقه قبل از تزریق نیکوتین (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی) دریافت کردند. دوزهای بیوتین بر اساس مقادیر توصیه شده برای یک انسان بالغ ۷۰ کیلوگرمی محاسبه شد و سپس با توجه به اندازه بدن متابولیک موش‌ها تنظیم گردید (۲۰، ۲۱). گروه ۶: به این گروه بالاترین دوز بیوتین (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی داده شد. مداخلات به صورت یک بار در روز از روز ۲۱ پس از تولد تا روز ۴۱ پس از تولد انجام شد. پس از تکمیل پروتکل‌های درمانی، همه گروه‌ها وارد یک دوره سه هفته‌ای مشاهده بدون مداخله (از روز ۴۲ تا ۶۳ پس از تولد) شدند (۹). این دوره برای ارزیابی اثرات طولانی‌مدت درمان‌ها و نظارت بر علائم ترک که ممکن است به دنبال قطع نیکوتین رخ داده باشد، طراحی شده است.

### ۳-۲. ارزیابی‌های رفتاری

پس از دوره مشاهده بدون دارو، ارزیابی‌های رفتاری انجام شد که شامل آزمون میدان باز (OFT)، آزمون پلس میز (EPM) و تست شنای اجباری (FST) بود. قبل از انجام آزمایش، همه حیوانات حداقل ۳۰ دقیقه با محیط آزمایشی سازگار شدند تا استرس کاهش یابد و اطمینان حاصل شود که در محیط راحت هستند. برای ارتقای رفتار اکتشافی طبیعی در طول آزمایش‌ها،

ساخته شده از مواد مات و به ۲۵ ربع مساوی ۲۰ در ۲۰ سانتی متری انجام شد. هر موش در مرکز میدان قرار داشت و پنج دقیقه فرصت داشت تا این محیط جدید را کشف کند. فعالیت حرکتی آن‌ها، از جمله مدت زمان صرف شده در نواحی مرکزی و محیطی (۹)، با استفاده از نرم‌افزار ردیابی ویدیویی ثبت و تجزیه و تحلیل شد.

### ۲-۳-۲. آزمون پلس میز

پس از OFT، اثرات ضد اضطراب بیوتین با استفاده از EPM ارزیابی شد. EPM یک آزمون شناخته شده برای ارزیابی رفتارهای شبه اضطرابی و فعالیت حرکتی است. این آزمون دارای یک پلت فرم به شکل مثبت است که از سطح زمین بلند شده است، با دو بازوی مخالف که باز مانده و دو بازوی دیگر توسط دیوارها محصور شده اند. حیوان در ناحیه مرکزی پیچ و خم تحت نور کم قرار می‌گیرد و به آن امکان دسترسی به هر یک از بازوها را می‌دهد. رفتارهای حیوان با تمرکز بر زمان صرف شده در هر بازو و تعداد ورودی‌های انجام شده در طول پنج دقیقه ثبت می‌شود. این آزمون بر روی رفتار معمولی جوندگان سرمایه گذاری می‌کند، که عموماً فضاهای بسته را برای ایمنی ترجیح می‌دهند و در عین حال نسبت به محیط‌های ناآشنا نیز کنجکاوی نشان می‌دهند. در نتیجه، سطح اضطراب را می‌توان با مقایسه مدت زمان صرف شده در بازوهای باز با بازوهای بسته استنباط کرد. حیواناتی که سطح اضطراب کمتری دارند، بیشتر در بازوهای باز کاوش می‌کنند، در حالی که آن‌هایی که سطح اضطراب

نور محیط به‌طور خاص تنظیم شد: برای آزمایش پلس میز، نور به میزان ۱۵۰ لوکس و برای آزمایش در فضای آزاد به میزان ۴۰ لوکس تنظیم گردید. این کالیبراسیون دقیق شرایط نور به ایجاد فضای مناسب برای ارزیابی رفتارهای مرتبط با اضطراب کمک می‌کند. برای به حداقل رساندن خطر آلودگی متقابل و اطمینان از یکپارچگی داده‌ها، موش‌های آزمایش شده قبلی جدا از موش‌هایی نگهداری می‌شدند که هنوز در طول جلسات آزمایشی مورد آزمایش قرار نگرفتند. علاوه بر این، بین آزمایش‌ها، دستگاه‌های رفتاری کاملاً با محلول اتانول ۱۰ درصد ضدعفونی شد تا هرگونه محرک بوی باقی‌مانده که می‌تواند بر رفتار موش‌ها تأثیر بگذارد، از بین برود.

### ۲-۳-۱. آزمون میدان باز

آزمون میدان باز یک ارزیابی رفتاری است که به‌طور معمول برای سنجش رفتارهای احساسی مرتبط با ترس در جوندگان استفاده می‌شود. در این آزمایش، موش‌ها در یک محوطه بزرگ و محصور قرار می‌گیرند که معمولاً به مناطق مرکزی و محیطی تقسیم می‌شود (۲۲). در OFT، مدت زمانی که جوندگان در مرکز میدان سپری می‌کنند، یک شاخص رایج برای سطوح اضطراب است؛ به این معنا که زمان کوتاه‌تری که در مرکز سپری می‌شود، با اضطراب بالاتر همراه است. از سوی دیگر، کاوش بیشتر در ناحیه مرکزی نشان‌دهنده اضطراب کمتر و تمایل بیشتر به رفتار اکتشافی است (۲۳-۲۵). در این مطالعه، OFT در فضای مربعی به ابعاد ۱۰۰ در ۱۰۰ در ۴۰ سانتی‌متر

۲۹). این فاصله ۲۴ ساعته برای ارزیابی سازگاری و تکرارپذیری رفتارهای مشاهده شده در طول زمان طراحی شده است. در طول آزمایش، هر حیوان با دقت در آب قرار داده شد و اجازه داده شد آزادانه در مخزن شنا کند. مدت زمان شنا کردن فعال، مبارزه و بی حرکتی به مدت ۵ دقیقه با استفاده از دوربین فیلمبرداری ثبت شد. پس از هر جلسه، موش‌ها خارج شدند، خشک شدند و به مدت ۳۰ دقیقه گرم نگه داشته شدند و سپس برای بقیه آزمایش به قفس خود بازگردانده شدند.

### ۲-۳-۴. تحلیل‌های آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism انجام شد. روش‌های آماری مورد استفاده شامل آنالیز واریانس یک طرفه و سپس آزمون تعقیبی توکی بود. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین (SEM) ارائه شده‌اند. برای تعیین معنی‌داری آماری، از سطح معنی‌داری  $\alpha = 0.05$  استفاده شد که با فاصله اطمینان ۹۵ درصد مطابقت دارد. نتایج گروه نیکوتین با نتایج گروه کنترل مقایسه شد، در حالی که نتایج گروه نیکوتین + بیوتین با نتایج گروه نیکوتین مقایسه گردید.

### ۳. نتایج

#### ۳-۱. اثرات بیوتین بر رفتارهای شبیه به اضطراب ناشی از نیکوتین

در این مطالعه، موش‌هایی که تحت ترک نیکوتین قرار گرفتند، رفتارهای شبه اضطرابی آشکاری از خود نشان

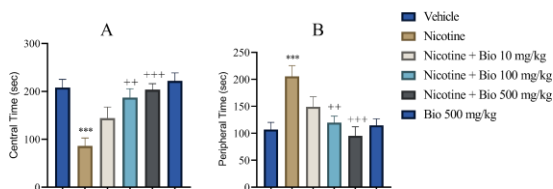
بالتری دارند عمدتاً در بازوهای بسته باقی می‌مانند (۲۶). در این مطالعه، EPM شامل یک دستگاه به شکل بعلاوه ساخته شده از چوب خاکستری مات بود که ۵۰ سانتی متر بالاتر از سطح زمین نصب شده بود. بازوهای محصور شده با دیوارهایی به ارتفاع ۴۰ سانتی متر طراحی شده بود تا به حیوانات احساس امنیت بدهد. هر موش به طور جداگانه در مرکز ماز قرار داده شد تا به یکی از بازوهای باز دسترسی پیدا کند و ۵ دقیقه به آن‌ها فرصت داده شد تا محیط را کشف کنند. در این مدت رفتار آن‌ها بر اساس مدت زمانی که صرف کردند و تعداد کل ورودی‌های باز و بسته ثبت و تجزیه و تحلیل شد. زمان سپری شده و نفوذ بازو بر اساس لحظه قرار گرفتن کامل حیوان در بازو ثبت شد.

#### ۲-۳-۳. آزمون شنای اجباری

در آزمون شنای اجباری، جوندگان در ظرفی پر از آب قرار می‌گیرند که نمی‌توانند از آن فرار کنند. زمان صرف شده در حالت ایستاده (شنا) همراه با زمان فعال (شنا یا مبارزه) ثبت می‌شود. بی‌حرکی بیشتر به عنوان نشانه‌ای از ناامیدی رفتاری در نظر گرفته می‌شود، مشابه حالت‌های افسردگی مشاهده شده در انسان (۲۷). در این مطالعه، حیوانات در استوانه‌های شیشه‌ای پر از آب با دمای  $24 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و عمق ۳۰ سانتی‌متر برای ارتقای شنا قرار داده شدند. دو جلسه شنا انجام شد: اولین جلسه یک پیش‌آزمون ۱۵ دقیقه‌ای برای سازگاری حیوانات با محیط بود، سپس جلسه دوم که یک آزمایش ۵ دقیقه‌ای بود، ۲۴ ساعت بعد برای ارزیابی رفتار آن‌ها انجام شد (۲۸).

### ۲-۳. اثرات بیوتین بر رفتارهای افسردگی ناشی از ترک نیکوتین

در آزمون شنای اجباری ترک نیکوتین با افزایش رفتارهای شبه افسردگی مرتبط بود. این امر به وضوح با کاهش قابل توجه زمان مبارزه، افزایش بی حرکتی، و زمان بی حرکتی در مقایسه با گروه کنترل نشان داده شد (شکل ۳). این نتایج نشان دهنده تأثیر منفی ترک نیکوتین بر رفتارهای افسردگی در موش‌ها است. تیمار با بیوتین در دوزهای ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور قابل توجهی زمان مبارزه را بهبود بخشید. همچنین، این تیمار باعث کاهش بی حرکتی و زمان بی حرکتی در مقایسه با گروه نیکوتین شد (شکل ۳). به طور کلی، این یافته‌ها نشان می‌دهند که بیوتین ممکن است به عنوان یک مداخله مؤثر در کاهش رفتارهای افسردگی ناشی از ترک نیکوتین عمل کند و این موضوع نیاز به تحقیقات بیشتری برای بررسی مکانیزم‌های دقیق آن دارد.

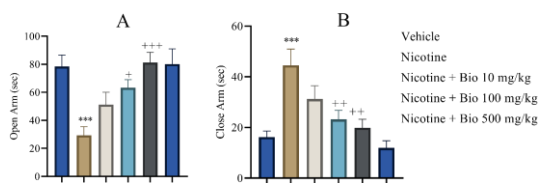


شکل ۱. ارزیابی رفتارهای مرتبط با اضطراب. (الف) زمان صرف شده در ناحیه مرکزی جعبه میدان باز؛ و (ب) مدت زمان اکتشاف حیوانات در بخش‌های محیطی گروه‌های آزمایشی. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  SEM ارائه می‌شوند. تفاوت معنی‌داری با  $p < 0.001$ \*\*\* در مقایسه با گروه کنترل، و  $p < 0.01$ \*\* و  $p < 0.001$ +++ در مقایسه با گروه نیکوتین مشاهده شد.

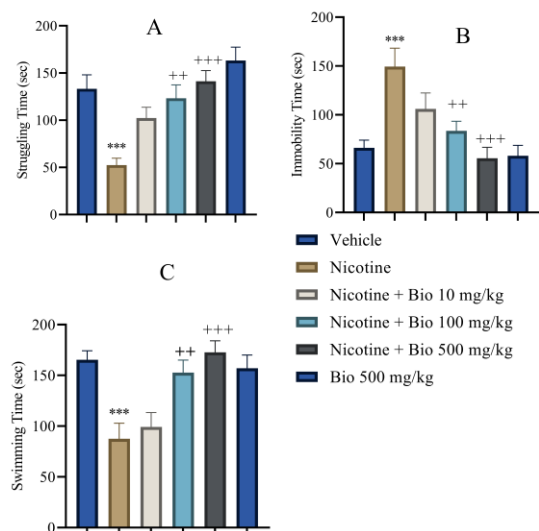
دادند. این رفتارها به‌ویژه در کاهش قابل توجه اکتشاف ناحیه مرکزی در طول آزمون میدان باز و در عوض افزایش کاوش در ناحیه محیطی مشهود بود (شکل ۱). این یافته‌ها نشان‌دهنده افزایش سطوح اضطراب در حیوانات تحت ترک نیکوتین است. تیمار با بیوتین در دوزهای ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور قابل توجهی اکتشاف ناحیه مرکزی را بهبود بخشید، در حالی که اکتشاف ناحیه محیطی کاهش یافت (شکل ۱). این نتایج نشان می‌دهند که بیوتین ممکن است به‌عنوان یک عامل تسهیل‌کننده در کاهش رفتارهای اضطرابی عمل کند. ارزیابی‌های اضافی با استفاده از آزمون پلس میز تأیید کرد که حیوانات ترک نیکوتین به‌طور قابل توجهی رفتار شبه اضطرابی را افزایش دادند. این افزایش با کاهش قابل توجه در زمان صرف شده در بازوهای باز و افزایش زمان صرف شده در بازوهای بسته مشخص شد. علاوه بر این، حیوانات تحت ترک نیکوتین کاهش قابل توجهی در ورود به بازوی باز و افزایش ورودی به بازوی بسته در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند (شکل ۲). قابل ذکر است که دوزهای بالاتر بیوتین (۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌طور قابل توجهی این رفتارهای اضطراب‌گونه را کاهش دادند. این تأثیرات مثبت با زمان طولانی‌تر در بازوهای باز، زمان کوتاه‌تر در بازوهای بسته، و افزایش ورودی به بازوهای باز و کاهش ورودی‌های بازوی بسته در مقایسه با گروه نیکوتین تجلی یافتند (شکل ۲).

#### ۴. بحث

نیکوتین، یک آلکالوئید اصلی در تنباکو، می‌تواند استرس اکسیداتیو را تحریک کند و سطوح انتقال دهنده‌های عصبی را تعدیل کند، که با اضطراب و اختلالات افسردگی مرتبط است (۳۳). علاوه بر این، قطع مصرف نیکوتین با افزایش رفتار شبه اضطرابی و بروز علائم افسردگی مرتبط است (۹، ۳۳). اگرچه پروتکل‌های درمانی متعددی به‌طور مؤثر مدل‌های ترک نیکوتین را با استفاده از دوزها و برنامه‌های تجویز متفاوت ایجاد کرده‌اند (۳۴-۳۶)، این مطالعه به‌طور خاص از طریق تزریق روزانه ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیکوتین در طول ۲۱ روز باعث ترک نیکوتین شد. این رژیم دوز خاص به دلیل اثربخشی نشان داده شده آن در مطالعه قبلی ما (۹) انتخاب شد، جایی که ما به‌طور مداوم علائم ترک قابل اعتماد و تغییرات رفتاری قابل توجه را مشاهده کردیم. نتایج میدان باز نشان داد که حیوانات به‌طور قابل توجهی زمان کمتری را در ناحیه مرکزی میدان باز پس از خروج نیکوتین در مقایسه با گروه وسیله نقلیه سپری کردند (شکل ۲A). این نشان می‌دهد که حیوان تمایل دارد زمان بیشتری را در نواحی پیرامونی بگذراند و از کاوش آزادانه در فضاها باز اجتناب می‌کند، که نشان دهنده سطوح بالاتری از اضطراب و استرس است (۳۷). در مرحله بعدی، آزمون پلس میز انجام شد و نتایج به‌طور مداوم سطوح بالاتری از اضطراب را در افراد تحت ترک نیکوتین نشان داد (شکل ۳). این نتیجه‌گیری از کاهش زمان اکتشاف حیوانات در



شکل ۲. ارزیابی رفتارهای مرتبط با اضطراب. (الف) مدت زمان صرف شده در آغوش باز سکو؛ (ب) مدت زمان اکتشاف حیوانات در مناطق محصور؛ (C) ورودی باز کل؛ و (D) ورود کل بازوی بسته در گروه‌های آزمایشی مختلف ثبت شد. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  SEM ارائه می‌شوند. تجزیه و تحلیل آماری تفاوت معنی‌داری را با  $p < 0.001$ \*\*\*،  $p < 0.01$ \*\* و  $p < 0.05$ + در مقایسه با گروه وسیله نقلیه و  $p < 0.001$ +++ در مقایسه با گروه نیکوتین نشان داد.



شکل ۳. ارزیابی رفتارهای شبه افسردگی. (الف) زمان مبارزه حیوان برای بقا در آب؛ (ب) مدت زمان بی‌حرکتی، که به زمانی اشاره دارد که حیوان به‌طور فعال برای نجات خود شنا نمی‌کند. و (ج) مدت زمان شنای معمولی در گروه‌های آزمایشی مختلف. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  SEM ارائه می‌شوند. تفاوت معنی‌داری با  $p < 0.001$ \*\*\* در مقایسه با گروه وسیله نقلیه و  $p < 0.01$ \*\* و  $p < 0.001$ +++ در مقایسه با گروه نیکوتین مشاهده شد.

بازوهای باز و حضور طولانی‌تر آن‌ها در فضاهاى بسته ناشی می‌شود (۳۸). علاوه بر این، نتایج آزمون شنایی اجباری نشان می‌دهد که ترک نیکوتین تلاش حیوانات را برای جلوگیری از غرق شدن در استخر کاهش می‌دهد. این با کاهش زمان صرف شده برای مبارزه در آب مشهود بود که نشان دهنده پریشانی روانی است (شکل ۴). تاکنون، نتایج ما با تحقیقات قبلی مطابقت دارد که نشان می‌دهد کناره‌گیری از قرار گرفتن در معرض نیکوتین مزمن منجر به سازگاری‌های عصبی می‌شود که باعث افزایش اضطراب و رفتارهای شبه افسردگی در جوندگان می‌شود (۸، ۳۹). با توجه به شواهد قوی برای اثرات مثبت بیوتین بر اضطراب و افسردگی (۴۰)، هدف ما این بود که تعیین کنیم آیا بیوتین می‌تواند از عوارض رفتاری ناشی از ترک نیکوتین جلوگیری کند یا آن را کاهش دهد. برای رسیدن به این هدف، بیوتین به صورت خوراکی قبل از تزریق نیکوتین در نوجوانی تجویز شد و بعدها در بزرگسالی، مطالعاتی در مورد اضطراب و افسردگی انجام شد. نکته مهم، نتایج این مطالعه نشان داد که پیش تیمار با بیوتین به طور قابل توجهی رفتار اکتشافی را در ناحیه مرکزی بهبود بخشید در حالی که کل زمان اکتشاف در OFT را نسبت به گروه کنترل کاهش داد (شکل ۲). علاوه بر این، پیش تیمار با بیوتین منجر به زمان طولانی‌تری در بازوی باز و زمان کوتاه‌تری در بازوهای بسته EPM در مقایسه با گروه کنترل شد (شکل ۳). با توجه به اینکه نوسانات در عوامل محیطی، مانند دما، می‌تواند

به طور قابل توجهی بر سیستم پاسخ به استرس در جوندگان تأثیر بگذارد (۴۱، ۴۲)، ما یک مرحله آشنایی ۱۵ دقیقه‌ای را ۲۴ ساعت قبل از ارزیابی رفتاری در آزمون شنایی اجباری وارد کردیم. این مرحله برای عادت دادن موش‌ها به روش آزمایش و به ما اجازه می‌دهد تا رفتار واقعی آن‌ها را در مرحله آزمایش اصلی ثبت کنیم. نکته قابل توجه، پیش درمانی با بیوتین با زمان مبارزه طولانی‌تر، عدم تحرک کمتر و مدت زمان طولانی‌تر شنا در گروه آزمون شنایی اجباری در مقایسه با گروه کنترل همراه بود (شکل ۴). درک این نکته مهم است که کاهش فعالیت بدنی معمولاً نشان دهنده رفتاری شبیه به اضطراب است تا افسردگی. برای مثال، ورود کمتر به بازوهای باز پلس میز و کاهش حرکت در میدان باز ممکن است نشان دهنده سطوح بالای اضطراب باشد (۴۳، ۴۴). در مقابل، آزمون شنایی اجباری در درجه اول رفتار شبه ناامیدی را ارزیابی می‌کند که در آن دوره‌های طولانی بی‌حرکتی نشانه افسردگی در نظر گرفته می‌شود. این آزمایش پاسخ حیوان به یک عامل استرس‌زا غیرقابل اجتناب را اندازه‌گیری می‌کند و بی‌حرکتی نشان دهنده فقدان انگیزه فرار است (۴۵، ۴۶). مطابق با تفاسیر Lucki و همکاران (۴۷)، الگوهای مختلف رفتارهای فعال مانند شنا و مبارزه مشاهده شده در آزمون شنایی اجباری نشان می‌دهد که سیستم سروتونرژیک ممکن است در اثرات ضد افسردگی مانند بیوتین نقش داشته باشد. این نتایج نشان می‌دهد که بیوتین می‌تواند به طور موثری اضطراب و افسردگی مرتبط با ترک

کمپلکس جدید بیوتین، بهبود قابل توجهی در رفتارهای اضطراب مانند و اختلالات شناختی در مدل‌های حیوانی در معرض نوروتوکسین پروپیونیک اسید نشان داده است (۵۲). علاوه بر این، بیوتین همراه با پروبیوتیک‌ها علائم روان را در افراد افسرده بهبود می‌بخشد (۵۳). نقش متابولیکی بیوتین و اثرات درمانی بالقوه آن در امراض مختلف ممکن است به طور غیرمستقیم بر اختلالات خلقی و اضطرابی نیز تأثیر بگذارد (۵۴).

### نتیجه‌گیری

در نتیجه، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ترک نیکوتین اضطراب و رفتارهای شبه افسردگی را تشدید می‌کند. علاوه بر این، مکمل بیوتین، قبل از قرار گرفتن در معرض نیکوتین، بروز علائم افسردگی مانند را کاهش می‌دهد. بنابراین، پیشنهاد می‌گردد که تجویز بیوتین یک رویکرد مصئون، مقرون به صرفه و موثر برای جلوگیری یا حداقل کاهش عوارض شناختی مرتبط با ترک نیکوتین در نوجوانان است. تحقیقات بیشتری برای روشن شدن اینکه چگونه بیوتین می‌تواند تغییرات بیوشیمیایی ناشی از خروج نیکوتین در سطوح گیرنده و آبشار سیگنالینگ را معکوس کند، مورد نیاز است.

نیکوتین را تسکین دهد. اگرچه این یافته‌ها به‌ویژه در زمینه پرهیز از نیکوتین در موش‌ها جدید هستند، اما با ادبیات موجود مطابقت دارند که نشان می‌دهد مکمل‌های غذایی ممکن است تأثیر مفیدی بر رفتارهای مرتبط با اضطراب داشته باشد (۴۸، ۴۹). دو گروه اصلی از ریز مغذی‌ها - ویتامین‌های محلول در آب (ویتامین گروه B) و مواد معدنی - برای عملکرد شناختی بهینه بسیار مهم هستند. آن‌ها از طریق چهار مکانیزم کلیدی بر عملکرد شناختی تأثیر می‌گذارند: تولید انتقال دهنده عصبی، تغییر فعالیت گیرنده، تأثیر بر غشای عصبی و نیازهای انرژی مغز، و مشارکت در متابولیسم هموسیستئین (HCy). این ریزمغذی‌ها با مشارکت در متابولیسم انرژی حشرات گلیال و نیورون‌ها، حمایت از سنتز انتقال دهنده‌های عصبی و حفظ فعالیت پمپ آیونی در غشاها، مستقیماً از عملکرد شناختی حمایت می‌کنند. حتی کمبودهای جزئی می‌تواند منجر به علائم غیر اختصاصی شود که عملکرد شناختی را مختل می‌کند. ویتامین‌های گروه B، از جمله بیوتین، به عنوان کوفاکتور برای عملکرد مایتوکندری و محافظت از آنزیم (۵۰) با بیوتین به ویژه به عنوان کوانزیم برای کاربوکسیلازها عمل می‌کند (۵۱). کمبود بیوتین می‌تواند فعالیت این آنزیم‌ها را کاهش دهد. علاوه بر این، افزایش مصرف بیوتین با بروز کمتر علائم افسردگی مرتبط است (۴۸). علاوه بر این، بیوتینات منیزیم (MgB)، یک

1. Ahmadi-Soleimani SM, Amiry GY, Khordad E, Masoudi M, Beheshti F. Omega-3 fatty acids prevent nicotine withdrawal-induced impairment of learning and memory via affecting oxidative status, inflammatory response, cholinergic activity, BDNF and amyloid-B in rat hippocampal tissues. *Life sciences*. 2023 Nov 1;332:122100. PubMed PMID: 37722588. Epub 2023/09/19. eng.
2. Yuan M, Leslie FM. Nicotine and fluoxetine alter adolescent dopamine-mediated behaviors via 5-HT(1A) receptor activation. *Frontiers in psychiatry*. 2024;15:1380123. PubMed PMID: 38919632. Pubmed Central PMCID: PMC11196788. Epub 2024/06/26. eng.
3. Spear LP. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience & biobehavioral reviews*. 2000;24(4):417-63.
4. Kim-Spoon J, Lauharatanahirun N, Peviani K, Briant A, Deater-Deckard K, Bickel WK, et al. Longitudinal pathways linking family risk, neural risk processing, delay discounting, and adolescent substance use. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*. 2019 Jun;60(6):655-64. PubMed PMID: 30809804. Pubmed Central PMCID: PMC6791121. Epub 2019/02/28. eng.
5. Mahajan SD, Homish GG, Quisenberry A. Multifactorial Etiology of Adolescent Nicotine Addiction: A Review of the Neurobiology of Nicotine Addiction and Its Implications for Smoking Cessation Pharmacotherapy. *Frontiers in public health*. 2021;9:664748. PubMed PMID: 34291026. Pubmed Central PMCID: PMC8287334. Epub 2021/07/23. eng.
6. Adriani W, Macri S, Pacifici R, Laviola G. Peculiar vulnerability to nicotine oral self-administration in mice during early adolescence. *Neuropsychopharmacology*. 2002;27(2):212-24.
7. Yuan M, Cross SJ, Loughlin SE, Leslie FM. Nicotine and the adolescent brain. *The Journal of Physiology*. 2015;593(16):3397-412.
8. Hogle JM, Kaye JT, Curtin JJ. Nicotine Withdrawal Increases Threat-Induced Anxiety but Not Fear: Neuroadaptation in Human Addiction. *Biological Psychiatry*. 2010 2010/10/15;68(8):719-25.
9. Amiry GY, Haidary M, Azhdari-Zarmehri H, Beheshti F, Ahmadi-Soleimani SM. Omega-3 fatty acids prevent nicotine withdrawal-induced exacerbation of anxiety and depression by affecting oxidative stress balance, inflammatory response, BDNF and serotonin metabolism in rats. *European journal of pharmacology*. 2023 May 15;947:175634. PubMed PMID: 36868293. Epub 2023/03/04. eng.
10. Moolchan ET, Robinson ML, Ernst M, Cadet JL, Pickworth WB, Heishman SJ, et al. Safety and Efficacy of the Nicotine Patch and Gum for the Treatment of Adolescent Tobacco Addiction. *Pediatrics*. 2005;115(4):e407-e14.
11. Mesdaghinia A, Alinejad M, Abed A, Heydari A, Banafshe HR. Anticonvulsant effects of thiamine on pentylenetetrazole-induced seizure in mice. *Nutritional neuroscience*. 2019 Mar;22(3):165-73. PubMed PMID: 28766407. Epub 2017/08/03. eng.
12. Sedel F, Bernard D, Mock DM, Tourbah A. Targeting demyelination and virtual hypoxia with high-dose biotin as a treatment for progressive multiple sclerosis. *Neuropharmacology*. 2016;110:644-53.
13. Sedel F, Papeix C, Bellanger A, Touthou V, Lebrun-Frenay C, Galanaud D, et al. High doses of biotin in chronic progressive multiple sclerosis: a pilot study. *Multiple sclerosis and related disorders*. 2015;4(2):159-69.
14. Chedrawi AK, Ali A, Al Hassnan ZN, Faiyaz-Ul-Haque M, Wolf B. Profound biotinidase deficiency in a child with

- predominantly spinal cord disease. *Journal of child neurology*. 2008 Sep;23(9):1043-8. PubMed PMID: 18645204. Epub 2008/07/23. eng.
15. Rathi N, Rathi M. Biotinidase deficiency with hypertonia as unusual feature. *Indian pediatrics*. 2009 Jan;46(1):65-7. PubMed PMID: 19179722. Epub 2009/01/31. eng.
  16. Uchida Y, Ito K, Ohtsuki S, Kubo Y, Suzuki T, Terasaki T. Major involvement of Na<sup>+</sup>-dependent multivitamin transporter (SLC5A6/SMVT) in uptake of biotin and pantothenic acid by human brain capillary endothelial cells. *Journal of neurochemistry*. 2015;134(1):97-112.
  17. Sghaier R, Zarrouk A, Nury T, Badreddine I, O'Brien N, Mackrill JJ, et al. Biotin attenuation of oxidative stress, mitochondrial dysfunction, lipid metabolism alteration and 7 $\beta$ -hydroxycholesterol-induced cell death in 158N murine oligodendrocytes. *Free Radical Research*. 2019 2019/05/04;53(5):535-61.
  18. McCarty MF, DiNicolantonio JJ. Neuroprotective potential of high-dose biotin. *Medical Hypotheses*. 2017 2017/11/01;109:145-9.
  19. Edition E. *GUIDE LABORATORY ANIMALS*. 2011.
  20. Shin J-W, Seol I-C, Son C-G. Interpretation of animal dose and human equivalent dose for drug development. *대한한의학회지*. 2010;31(3):1-7.
  21. Nair AB, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of basic and clinical pharmacy*. 2016;7(2):27.
  22. Kraeuter A-K, Guest PC, Sarnyai Z. The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior. *Pre-clinical models: techniques and protocols*. 2019:99-103.
  23. Nosek K, Dennis K, Andrus B, Ahmadiyah N, Baum AE, Woods LCS, et al., editors. *Behavioral and Brain Functions* 2008.
  24. Gould TD, editor *Mood and anxiety related phenotypes in mice : characterization using behavioral tests* 2009.
  25. Sturman O, Germain P-L, Bohacek J. Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. *Stress*. 2018 2018/09/03;21(5):443-52.
  26. Acikgoz B, Dalkiran B, Dayi A. An overview of the currency and usefulness of behavioral tests used from past to present to assess anxiety, social behavior and depression in rats and mice. *Behavioural Processes*. 2022 2022/08/01;200:104670.
  27. Pumpaisalchai W, Kaewichit S, Taesothikul T, Niwatananun W, Sanichwankul K, editors. *The Antidepressive Effect of Barakol in the Forced-Swimming Test* 2005.
  28. Estrada-Camarena E, Fernández-Guasti A, López-Rubalcava C. Antidepressant-Like Effect of Different Estrogenic Compounds in the Forced Swimming Test. *Neuropsychopharmacology*. 2003 2003/05/01;28(5):830-8.
  29. Detke MJ, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology*. 1995 1995/09/01;121(1):66-72.
  30. Yasar SAS, Kotekar S, Bhat NP, Nayak RP. Anxiolytic effects of stem of *Rubia cordifolia* ethanol extract on anxiety models in Wistar albino rats. *MRIMS Journal of Health Sciences*. 9900:10.4103/mjhs.mjhs\_13\_24. PubMed PMID: 01761382-990000000-00025.
  31. Hickman DL, Fitz SD, Bernabe CS, Caliman IF, Haulcomb MM, Federici LM, et al. Evaluation of Low versus High Volume per Minute Displacement CO<sub>2</sub> Methods of

- Euthanasia in the Induction and Duration of Panic-Associated Behavior and Physiology. *Animals*. 2016;6(8):45. PubMed PMID: doi:10.3390/ani6080045.
32. Black CN, Bot M, Scheffer PG, Cuijpers P, Penninx BWJH. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2015 2015/01/01/;51:164-75.
33. Torres OV, Gentil LG, Natividad LA, Carcoba LM, O'Dell LE. Behavioral, Biochemical, and Molecular Indices of Stress are Enhanced in Female Versus Male Rats Experiencing Nicotine Withdrawal. *Frontiers in psychiatry*. 2013;4:38. PubMed PMID: 23730292. Pubmed Central PMCID: PMC3657710. Epub 2013/06/05. eng.
34. Patel D, Vishwakarma PK, Patel R, Jain NS. Central histaminergic transmission modulates the expression of chronic nicotine withdrawal induced anxiety-like and somatic behavior in mice. *Behavioural Brain Research*. 2021 2021/02/05/;399:112997.
35. Gozen O, Aypar B, Ozturk Bintepe M, Tuzcu F, Balkan B, Koylu EO, et al. Chronic Nicotine Consumption and Withdrawal Regulate Melanocortin Receptor, CRF, and CRF Receptor mRNA Levels in the Rat Brain. *Brain Sciences*. 2024;14(1):63. PubMed PMID: doi:10.3390/brainsci14010063.
36. Yamazaki Y, Fujii S, Jia Y, Sumikawa K. Nicotine withdrawal suppresses nicotinic modulation of long-term potentiation induction in the hippocampal CA1 region. *European Journal of Neuroscience*. 2006;24(10):2903-16.
37. Sudakov SK, Nazarova GA, Alekseeva EV, Bashkatova VG. Estimation of the Level of Anxiety in Rats: Differences in Results of Open-Field Test, Elevated Plus-Maze Test, and Vogel's Conflict Test. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2013 2013/07/01;155(3):295-7.
38. Kraeuter A-K, Guest PC, Sarnyai Z. The Elevated Plus Maze Test for Measuring Anxiety-Like Behavior in Rodents. In: Guest PC, editor. *Pre-Clinical Models: Techniques and Protocols*. New York, NY: Springer New York; 2019. p. 69-74.
39. Manhães AC, Guthierrez MCS, Filgueiras CC, Abreu-Villaça Y. Anxiety-like behavior during nicotine withdrawal predict subsequent nicotine consumption in adolescent C57BL/6 mice. *Behavioural Brain Research*. 2008 2008/11/21/;193(2):216-24.
40. Almasi S, Jafarzadeh Shirazi MR, Rezvani MR, Ramezani M, Salehi I, Pegah A, et al. The protective effect of biotin supplementation and swimming training on cognitive impairment and mental symptoms in a rat model of Alzheimer's disease: A behavioral, biochemical, and histological study. *Heliyon*. 2024;10(13).
41. Atrooz F, Alkadhi KA, Salim S. Understanding stress: Insights from rodent models. *Current research in neurobiology*. 2021;2:100013. PubMed PMID: 36246514. Pubmed Central PMCID: PMC9559100. Epub 2021/05/23. eng.
42. Lucas LR, Wang CJ, McCall TJ, McEwen BS. Effects of immobilization stress on neurochemical markers in the motivational system of the male rat. *Brain Res*. 2007 Jun 25;1155:108-15. PubMed PMID: 17511973. Pubmed Central PMCID: PMC2752980. Epub 2007/05/22. eng.
43. Vasconcelos SMM, Macedo DS, de Melo CTV, Monteiro AP, Cunha GMA, Sousa FCF, et al. Central activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in mice†. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2004;56(3):389-93.

44. Galani VJ, Patel BG. Effect of hydroalcoholic extract of *Sphaeranthus indicus* against experimentally induced anxiety, depression and convulsions in rodents. *International journal of Ayurveda research*. 2010 Apr;1(2):87-92. PubMed PMID: 20814521. Pubmed Central PMCID: PMC2924989. Epub 2010/09/04. eng.
45. Dao NC, Suresh Nair M, Magee SN, Moyer JB, Sendao V, Brockway DF, et al. Forced Abstinence From Alcohol Induces Sex-Specific Depression-Like Behavioral and Neural Adaptations in Somatostatin Neurons in Cortical and Amygdalar Regions. *Frontiers in behavioral neuroscience*. 2020;14:86. PubMed PMID: 32536856. Pubmed Central PMCID: PMC7266989. Epub 2020/06/17. eng.
46. Xia J, Wang H, Zhang C, Liu B, Li Y, Li K, et al. The comparison of sex differences in depression-like behaviors and neuroinflammatory changes in a rat model of depression induced by chronic stress. *Frontiers in behavioral neuroscience*. 2022;16:1059594. PubMed PMID: 36703721. Pubmed Central PMCID: PMC9872650. Epub 2023/01/28. eng.
47. Detke MJ, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology*. 1995;121:66-72.
48. Mahdaviifar B, Hosseinzadeh M, Salehi-Abargouei A, Mirzaei M, Vafa M. Dietary intake of B vitamins and their association with depression, anxiety, and stress symptoms: A cross-sectional, population-based survey. *Journal of Affective Disorders*. 2021 2021/06/01/;288:92-8.
49. Zielińska M, Łuszczki E, Dereń K. Dietary Nutrient Deficiencies and Risk of Depression (Review Article 2018-2023). *Nutrients*. 2023 May 23;15(11). PubMed PMID: 37299394. Pubmed Central PMCID: PMC10255717. Epub 2023/06/10. eng.
50. Huskisson E, Maggini S, Ruf M. The influence of micronutrients on cognitive function and performance. *Journal of international medical research*. 2007;35(1):1-19.
51. Liu J, Ames BN. Reducing mitochondrial decay with mitochondrial nutrients to delay and treat cognitive dysfunction, Alzheimer's disease, and Parkinson's disease. *Nutritional neuroscience*. 2005;8(2):67-89.
52. Sahin K, Orhan C, Karatoprak S, Tuzcu M, Deeh PBD, Ozercan IH, et al. Therapeutic Effects of a Novel Form of Biotin on Propionic Acid-Induced Autistic Features in Rats. *Nutrients*. 2022;14(6):1280. PubMed PMID: doi:10.3390/nu14061280.
53. Reininghaus EZ, Platzer M, Kohlhammer-Dohr A, Hamm C, Mörkl S, Bengesser SA, et al. PROVIT: Supplementary Probiotic Treatment and Vitamin B7 in Depression—A Randomized Controlled Trial. *Nutrients*. 2020;12(11):3422. PubMed PMID: doi:10.3390/nu12113422.
54. Fernandez-Mejia C. Pharmacological effects of biotin. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2005 2005/07/01/;16(7):424-7.