

## بررسی اثر محافظتی اکسی‌توسین در اختلال طیف اوتیسم در مدل لارو ماهی زبرا (*Danio rerio*): مطالعه‌ی مولکولی و رفتاری

شکوفه حسنی<sup>۱\*</sup>، هومن رحمتی هولاسو<sup>۲</sup>، آرمن سالک مقصودی<sup>۳</sup>، مهدی غلامی<sup>۳</sup>، امیر شادبورستان<sup>۴</sup>، فائزه وخشینه<sup>۵</sup>

۱- مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- گروه سم‌شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴- گروه سم‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۵- مرکز تحقیقات آسیب شناسی سرطان، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

شکوفه حسنی: shokoufehasani@gmail.com

### چکیده

هدف: اوتیسم به‌عنوان یک اختلال عصبی-رشدی و شناختی پیچیده شناخته می‌شود که با اختلال در تعاملات اجتماعی، بیش‌فعالی، اضطراب، اختلالات ارتباطی و علایق محدود شونده و یکنواختی همراه است. ماهی زبرا (*Danio rerio*) یک مهره‌دار با رفتار تعاملی اجتماعی است که به‌عنوان یک مدل تحقیقاتی زیست‌پزشکی برای درک مکانیسم‌های رفتار اجتماعی استفاده می‌شود.

مواد و روش‌ها: پس از تخم‌ریزی اولیه، این تخم‌ها طی مکانیسم استاندارد به‌مدت ۴۸ ساعت در معرض سدیم والپروات قرار گرفتند و پس از آن تخم‌ها به هشت گروه تقسیم شدند. گروه‌های مثبت و شاهد و شش گروه تیمار شده با غلظت‌های اکسی‌توسین ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار در مدت زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت، گروه‌بندی این طرح تحقیقاتی را تشکیل می‌دادند. از نظر زمانی، درمان ۶ تا ۷ روز پس از لقاح انجام شد، که همراه با لیبل‌دار کردن اکسی‌توسین توسط فلورسئین-۵-ایزوتیوسیانات (FITC) بود و تصویربرداری با میکروسکوپ کانفوکال انجام شد. سپس سطوح بیان ژن‌های مورد نظر این مطالعه با تکنیک qPCR مورد بررسی قرار گرفت و مطالعات رفتاری که شامل تست‌های ترجیح زمینه روشن و تاریک، Shoaling، تست آینه و ترجیح اجتماعی به‌ترتیب در روز دهم، یازدهم، دوازدهم و سیزدهم پس از لقاح انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان‌دهنده بیشترین اثربخشی اکسی‌توسین با غلظت ۵۰ میکرومولار و زمان ۴۸ ساعت بود. در این دوز پارامترهای به‌دست آمده شامل افزایش بیان ژن‌های shank3a، shank3b و گیرنده اکسی‌توسین کاملاً معنی‌دار بود. نتایج تست ترجیح زمینه تیره و روشن با اکسی‌توسین در غلظت ۵۰ میکرومولار به‌طور قابل‌توجهی افزایش تعدد گذر را در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سدیم والپروات نمایش داد. تعداد دفعات و زمان تماس بین لاروها در گروه‌های تیمار شده با اکسی‌توسین افزایش یافت. کاهش فاصله بین گروه‌های لاروها و افزایش معنی‌دار مدت‌زمان سپری شده در فاصله‌ی یک سانتی‌متری آینه، قابل مشاهده بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌های ما نشان داد که افزایش سطح بیان ژن گیرنده‌های shank3a، shank3b و اکسی‌توسین باعث بهبود رفتار اوتیسم می‌گردد. بر اساس این مطالعه تأثیر تجویز اکسی‌توسین در مرحله‌ی لاروی برای بهبود بخشیدن اختلالات طیف اوتیسم قابل توجه بود.

واژه‌های کلیدی: اختلال طیف اوتیسم، ماهی زبرا، اکسی‌توسین، رفتار اجتماعی



# Investigation of Protective Effect of Oxytocin on Autism Spectrum Disorder Model of Zebrafish Larvae: A Behavioral and Molecular Assessment

Shokoufeh Hassani<sup>1\*</sup>, Hooman Rahmati-Holasoo<sup>2</sup>, Armin Salek Maghsoudi<sup>3</sup>, Mahdi Gholami<sup>3</sup>, Amir Shadboorestan<sup>4</sup>, Faezeh Vakhshiteh<sup>5</sup>

1- Toxicology and Diseases Group (TDG), Pharmaceutical Sciences Research Center (PSRC), The Institute of Pharmaceutical Sciences (TIPS), Tehran University of Medical Sciences (TUMS), Tehran, Iran

2- Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

3- Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences (TUMS), Tehran, Iran

4- Department of Toxicology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

5- Oncopathology Research Center, Iran University of Medical Sciences (IUMS), Tehran, Iran

Shokoufeh Hassani: shokoufehasani@gmail.com

**Introduction:** Autism is a complicated neurodevelopmental disorder characterized by social interaction deficiencies, hyperactivity, anxiety, communication disorders, and a limited range of interests. The zebrafish (*Danio rerio*) is a social vertebrate used as a biomedical research model to understand social behavior mechanisms.

**Methods and Materials:** After spawning, the eggs were exposed to sodium valproate for 48 hr, after which the eggs were divided into eight groups. Except for the positive and control groups, there were six treatment groups based on oxytocin concentration (25, 50, and 100  $\mu$ M) and time point (24 and 48 hr). Treatment was performed on days 6 and 7, examined by labeling oxytocin with fluorescein5-isothiocyanate (FITC) and imaging with confocal microscopy and the expression levels of potential genes associated with the qPCR technique. Behavioral studies, including light-dark background preference test, shoaling behavior, mirror test, and social preference, were performed on 10, 11, 12, and 13 days post fertilization (dpf), respectively.

**Results:** The results showed that the most significant effect of oxytocin was at the concentration of 50  $\mu$ M and the time point of 48 hr. Increased expression of shank3a, shank3b, and oxytocin receptor genes was also significant at this oxytocin concentration. Light-dark background preference results showed that oxytocin in the concentration of 50  $\mu$ M significantly increased the number of crosses between dark and light areas compared with valproic acid (positive group). Also, oxytocin showed an increase in the frequency and time of contact between the two larvae. We showed a decrease in the distance in the larval group and an increase in time spent at a distance of one centimeter from the mirror.

**Conclusion:** Our findings showed that the increased gene expression of shank3a, shank3b, and oxytocin receptors improved autistic behavior. Based on this study some indications showed that oxytocin administration in the larval stage could significantly improve the autism-like spectrum.

**Keywords:** Zebrafish, Autism Spectrum Disorder, shank3, Oxytocin receptor, Social behavior

