Paramedical Sciences and Military Health

P-ISSN: 2423-7507 ISSN:2538-3086

Homepage: htt://jps.ajaums.ac.ir

Effects of Botulinum Toxin and Rivastigmine on Anxiety and Depression-Like Behaviors in Male Rats

Zohreh Zavvari Oskuye[1], Mohammad Reza Parvizi[2], Keyvan Mehri[1*]

[1] Department of Basic Medical Sciences, Khoy University of Medical Sciences, Khoy, Iran.

[2] Department of Physiology, Faculty of Medicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

ARTICLE INFO

Article Type:
Original Article

Article History:
Received: 2025/12/18
Received in revised form: 2026/01/24
Accepted: 2026/02/02
Published:2026/03/29

Corresponding Author:
Dr. Keyvan Mehri

Email:
keyvanmehri20@gmail.com

Abstract

Introduction: Botulinum toxin type A inhibits acetylcholine release at nerve terminals, thereby impairing cholinergic neurotransmission. In addition to its peripheral effects, it may also influence anxiety and depression related behaviors. Rivastigmine, as an acetylcholinesterase inhibitor, may attenuate these alterations by increasing acetylcholine availability. The present study aimed to investigate the effects of different doses of botulinum toxin type A and rivastigmine on anxiety and depression-related behaviors in male rats.

Materials and Methods: In this experimental study, forty-nine adult male Wistar rats were randomly assigned to seven groups (n = 7 per group) including a sham group receiving intramuscular saline, three groups receiving intramuscular botulinum toxin type A at doses of 3, 6, and 15 IU, and three corresponding groups receiving the same doses of botulinum toxin combined with a single intraperitoneal injection of rivastigmine (1 mg/kg) administered 30 minutes after botulinum toxin injection. Four weeks after treatment, anxiety-related behaviors were evaluated using the Elevated Plus Maze (EPM) and the Open Field Test (OFT); while, depression-related behavior was assessed using the Forced Swim Test (FST).

Results: In the EPM, the percentage of open-arm entries and the time spent in the open arms decreased in the botulinum toxin-treated groups; however, these changes were not statistically significant. In the OFT, both the time spent in the central zone and the number of entries into the central zone were significantly reduced in the botulinum toxin-treated groups compared with the sham group ($P < 0.001$). In the FST, botulinum toxin administration significantly increased immobility time ($P < 0.001$). Co-administration of rivastigmine significantly reduced immobility time in the 15 IU botulinum toxin group ($P < 0.05$). Although a trend toward improvement was observed in the other behavioral indices, the differences did not reach statistical significance.

Conclusion: Intramuscular administration of botulinum toxin type A was associated with alterations in some anxiety and depression-related behaviors in male rats, in such a way that an increase in immobility time in the forced swim test and decrease in exploratory behavior in the open field test were observed. Rivastigmine reduced immobility time in the 15 IU botulinum toxin group; however, it did not significantly affect other behavioral parameters. These findings suggest that botulinum toxin type A may influence behavioral responses; while, further studies are required to clarify the underlying mechanisms.

Keywords: Botulinum toxin, Rivastigmine, Anxiety, Depression, Cholinergic system.

Cite this article: Zavvari Oskuyee Z, Parvizi M R, Mehri K. Effects of Botulinum Toxin and Rivastigmine on Anxiety and Depression-Like Behaviors in Male Rats. Paramedical Sciences and Military Health 2026; 21 (1) :22-29.

© Author(s) retain the copyright.

https://doi.org/10.22034/JPSMH.21.1.22

Publisher: AJA University of Medical Sciences

علوم پیراپزشکی و بهداشت نظامی
شاپای چاپی: ۷۵۰۷-۲۴۲۳ شاپای الکترونیکی: ۳۰۸۶-۲۵۳۸
Homepage: htt://jps.ajaums.ac.ir

بررسی اثر توکسین بوتولینوم و ریواستیگمین بر رفتارهای شبه‌اضطرابی و شبه‌افسردگی در رت‌های نر

زهره زواری اسکویی[۱]، محمدرضا پرویزی[۲]، کیوان مهری[۱*]

[۱] گروه علوم پایه پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خوی، خوی، ایران.
[۲] گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

نوع مقاله
مقاله پژوهشی

سابقه مقاله
دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/ ۲۷
ویرایش: ۱۴۰۴/۱۱/۰۴
پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۳
انتشار برخط: ۱۴۰۵/۰۱/۹

* نویسنده مسئول:
دکتر کیوان مهری

آدرس الکترونیکی:
keyvanmehri20@gmail.com

چکیده

مقدمه: توکسین بوتولینوم نوع A (Botulinum toxin type A) با مهار آزادسازی استیل‌کولین در پایانه‌های عصبی، انتقال کولینرژیک را مختل می‌کند و ممکن است علاوه بر اثرات محیطی، بر برخی رفتارهای مرتبط با اضطراب و افسردگی نیز تأثیر بگذارد. ریواستیگمین به‌عنوان مهارکننده آنزیم استیل‌کولین‌استراز، با افزایش دسترسی استیل‌کولین می‌تواند در تعدیل این تغییرات نقش داشته باشد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر دوزهای مختلف توکسین بوتولینوم نوع A و ریواستیگمین بر رفتارهای مرتبط با اضطراب و افسردگی در رت‌های نر انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۹ سر رت نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی در ۷ گروه (۷ سر در هر گروه) شامل گروه شم(دریافت‌کننده سالین به‌صورت داخل‌عضلانی)، سه گروه دریافت‌کننده توکسین بوتولینوم نوع A با دوزهای ۳، ۶ و ۱۵ واحد و سه گروه دریافت‌کننده همان دوزهای بوتولینوم همراه با ریواستیگمین (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تک‌دوز داخل صفاقی، ۳۰ دقیقه پس از تزریق بوتولینوم) تقسیم شدند. چهار هفته پس از تزریق، رفتارهای مرتبط با اضطراب با استفاده از آزمون‌های ماز بعلاوه مرتفع (Elevated Plus Maze; EPM) و محوطه باز (Open Field Test; OFT) و رفتارهای مرتبط با افسردگی با استفاده از آزمون شنای اجباری (Forced Swim Test; FST) ارزیابی شدند.

یافته‌ها: در آزمون ماز بعلاوه مرتفع، درصد ورود و مدت حضور در بازوهای باز در گروه‌های دریافت‌کننده بوتولینوم کاهش یافت، اما این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبودند. در آزمون محوطه باز، مدت زمان حضور و تعداد ورود به ناحیه مرکزی در گروه‌های دریافت‌کننده بوتولینوم نسبت به گروه شم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/001$). همچنین در آزمون شنای اجباری، زمان بی‌حرکتی در حیوانات دریافت‌کننده بوتولینوم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0/001$). تجویز همزمان ریواستیگمین در گروه دریافت‌کننده ۱۵ واحد بوتولینوم موجب کاهش معنی‌دار زمان بی‌حرکتی شد ($P<0/05$)، در حالی که در سایر شاخص‌های رفتاری، اگرچه روند تغییرات به سمت بهبود مشاهده شد، اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: تجویز داخل‌عضلانی توکسین بوتولینوم نوع A با تغییر در برخی رفتارهای مرتبط با اضطراب و افسردگی در رت‌های نر همراه بود؛ به‌طوری‌که افزایش زمان بی‌حرکتی در آزمون شنای اجباری و کاهش رفتار اکتشافی در آزمون محوطه باز مشاهده شد. ریواستیگمین موجب کاهش زمان بی‌حرکتی در گروه دریافت‌کننده ۱۵ واحد بوتولینوم شد، اما بر سایر شاخص‌های رفتاری اثر معنی‌داری نداشت. این یافته‌ها نشان می‌دهد که توکسین بوتولینوم نوع A ممکن است بر پاسخ‌های رفتاری اثرگذار باشد و برای تعیین مکانیسم‌های زیربنایی این تغییرات، انجام مطالعات تکمیلی ضروری است.

کلیدواژه‌ها: توکسین بوتولینوم، ریواستیگمین، اضطراب، افسردگی، سیستم کولینرژیک.

استناد: زواری اسکویی زهره، پرویزی محمدرضا، مهری کیوان. بررسی اثر توکسین بوتولینوم و ریواستیگمین بر رفتارهای شبه‌اضطرابی و شبه‌افسردگی در رت‌های نر. علوم پیراپزشکی و بهداشت نظامی. ۱۴۰۴; ۲۱ (۱) : ۲۲-۲۹.

ناشر: دانشگاه علوم پزشکی ارتش.
© نویسندگان.
https://doi.org/10.22034/JPSMH.21.1.22
CC BY NC

مقدمه

اضطراب و افسردگی از شایع‌ترین اختلالات روان‌پزشکی هستند که شیوع بالای آن‌ها موجب ایجاد مشکلات قابل توجه فردی، اجتماعی و اقتصادی شده است. اگرچه سیستم‌های مونوآمینرژیک، به‌ویژه سروتونین، نورآدرنالین و دوپامین، نقش مهمی در تنظیم خلق دارند، شواهد فزاینده نشان می‌دهد که سیستم کولینرژیک نیز در تنظیم فرآیندهای هیجانی، شناختی و پاسخ به استرس مشارکت دارد(۱). استیل کولین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین نوروترنسمیترهای سیستم عصبی مرکزی، علاوه بر نقش در یادگیری و حافظه، در تنظیم رفتارهای مرتبط با اضطراب و خلق نیز مؤثر است و تغییر در فعالیت کولینرژیک می‌تواند با تغییرات رفتاری همراه باشد (۲).(۳). توکسین بوتولینوم نوع A (Botulinum toxin type A) یک نوروتوکسین قوی تولیدشده توسط باکتری Clostridium botulinum است که با تخریب پروتئین‌های کمپلکس SNARE موجب مهار آزادسازی استیل‌کولین از پایانه‌های عصبی می‌شود(۴).

این ویژگی باعث شده است که بوتولینوم به‌طور گسترده در درمان اختلالات مرتبط با افزایش فعالیت عضلانی، اسپاستیسیته و همچنین کاربردهای زیبایی مورد استفاده قرار گیرد. اگرچه بوتولینوم عمدتاً به‌عنوان یک نوروتوکسین محیطی شناخته می‌شود و اثر اصلی آن در محل اتصال عصب-عضله رخ می‌دهد، برخی مطالعات احتمال اثرات آن بر سیستم عصبی مرکزی را مطرح کرده‌اند. مکانیسم‌های احتمالی شامل انتقال رتروگراد آکسونی، تغییر در آزادسازی نوروترنسمیترها و اثر بر مسیرهای عصبی مرتبط با پلاستیسیته عصبی است. با این حال، میزان و اهمیت این اثرات همچنان مورد بحث است (۵).

برخی مطالعات اثرات محافظتی و تعدیل‌کننده بوتولینوم بر فرآیندهای عصبی را گزارش کرده‌اند(۶)، در حالی که مطالعات دیگر تغییرات نامطلوب شناختی و رفتاری را پس از مواجهه با این توکسین نشان داده‌اند(۷). این تفاوت‌ها ممکن است به عواملی مانند دوز مصرفی، مسیر تجویز، مدت زمان مواجهه و مدل حیوانی مورد استفاده مرتبط باشد. با وجود مطالعاتی درباره اثر بوتولینوم بر حافظه و عملکرد شناختی، اطلاعات درباره تأثیر آن بر رفتارهای مرتبط با اضطراب و افسردگی محدود است.

داروی ریواستیگمین یک مهارکننده کولین استراز می باشد که فرمول ساختاری متفاوتی نسبت به بیشتر مهار کننده های کولین استراز دارد. ریواستیگمین به عنوان یک عامل برگشت ناپذیر کاذب در نظر گرفته می شود زیرا دارای اثر مهاری طولانی مدت تا ۱۰ساعت بر روی استیل کولین استراز (AChE) و بوتیریل کولین استراز (BChE) است(۸). ریواستیگمین انتخاب پذیری بیشتری برای سیستم عصبی مرکزی در مقایسه با سیتم عصبی محیطی دارد. بنابراین این امر باعث می شود عوارض جانبی کمتری نسبت به سایر مهارکننده های کولین استراز داشته باشد بر خلاف فیزوستیگمین که عوارض جانبی بیشتری در رابطه با قلب و ماهیچه ها دارد(۹).

در مطالعه قبلی انجام‌شده توسط گروه پژوهشی حاضر(۱۰)، نشان داده شد که تجویز داخل‌عضلانی بوتولینوم نوع A در رت‌های نر موجب اختلال در عملکرد حافظه فضایی، کاهش سطح استیل‌کولین و افزایش فعالیت آنزیم استیل‌کولین‌استراز در هیپوکمپ و همچنین تغییرات بافتی در این ناحیه شد. همچنین تجویز ریواستیگمین، به‌عنوان مهارکننده کولین‌استراز با تمایل بیشتر برای اثرگذاری در سیستم عصبی مرکزی، توانست بخشی از این تغییرات را تعدیل نماید. این یافته‌ها این احتمال را مطرح می‌کنند که تغییر در عملکرد کولینرژیک ممکن است در برخی پیامدهای عصبی ناشی از بوتولینوم نقش داشته باشد.

با وجود مطالعات انجام‌شده درباره اثر بوتولینوم بر حافظه و عملکردهای شناختی، اطلاعات موجود درباره تأثیر آن بر رفتارهای مرتبط با اضطراب و افسردگی محدود است. همچنین مشخص نیست که آیا تعدیل سیستم کولینرژیک توسط داروهایی مانند ریواستیگمین می‌تواند تغییرات رفتاری احتمالی ناشی از بوتولینوم را تحت تأثیر قرار دهد یا خیر.

بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر دوزهای مختلف توکسین بوتولینوم نوع A و ریواستیگمین بر شاخص‌های رفتاری مرتبط با اضطراب و افسردگی در رت‌های نر انجام شد. فرضیه این مطالعه آن بود که مهار انتقال کولینرژیک ناشی از تجویز بوتولینوم می‌تواند با تغییر در برخی شاخص‌های رفتاری مرتبط با اضطراب و افسردگی همراه باشد و ریواستیگمین ممکن است این تغییرات را تعدیل نماید.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، پس از اخذ مجوز از کمیته اخلاق در پژوهش‌های حیوانی دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران با کد IR.AJAUMS.REC .۱۴۰۰.۳.۱۷، تعداد ۴۹ سر رت نر بالغ نژاد ویستار (با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم) تهیه و پس از انتقال به مرکز تحقیقات کاربردی-دارویی تبریز، به مدت یک هفته جهت سازگاری با شرایط محیطی نگهداری شدند. حیوانات در شرایط استاندارد حیوان‌خانه شامل دمای ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۰-۵۰ درصد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری

شـدند. حیوانات دسترسـی آزاد به آب و غذای اسـتاندارد داشتند. پس از دوره سازگاری، رت‌ها به‌صورت تصادفی در هفت گروه (۷ سر در هر گروه) تقسیم شدند.:

۱. گروه شم: دریافت کننده سالین بصورت داخل عضلانی
۲. گروه دریافت کننده توکسـین بوتولینوم به‌صورت داخل عضلانی با دوز پایین (IU 3)
۳. گروه دریافت کننده توکسـین بوتولینوم به‌صورت داخل عضلانی با دوز متوسط (IU 6)
۴. گروه دریافت کننده توکسـین بوتولینوم به‌صورت داخل عضلانی با دوز بالا (IU 15)
۵. گروه دریافت کننده توکسـین بوتولینـوم بصورت داخل عضلانی با دوز پایـن (IU 3) به همـراه ریواسـتیگمین ۱mg/kg به‌صورت تزریق داخل صفاقی
۶. گروه دریافت کننده توکسـین بوتولینوم بصورت داخل عضلانی با دوز متوسط (IU 6) به همراه ریواسـتیگمین ۱mg/kg به صورت تزریق داخل صفاقی
۷. گروه دریافت کننده توکسـین بوتولینوم بصورت داخل عضلانی با دوز بـالا (IU 15) به همراه ریواسـتیگمین ۱ mg/kg بـه صورت تزریق داخل صفاقی

توکسـین بوتولینـوم نـوع Aمـورد اسـتفاده در ایـن مطالعـه از فـرآورده تجاری(مصپورت، شـرکت داروسـازی مصـون، کرج، ایران) تهیه شـد. توکسین پس از آماده‌سـازی مطابق دستورالعمل شرکت سازنده، در عضله چهار سر ران به‌صورت داخل‌عضلانی تزریق گردید.

ریواستیگمین (شرکت داروسازی رازک، تهران، ایران) با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگـرم به‌صورت تزریق داخل‌صفاقی، ۳۰ دقیقه پس از تزریق بوتولینوم، به‌صورت تک‌دوز تجویز شد.

لازم به ذکر است که توکسین بوتولینوم نوع A در دوزهای ۳، ۶ و ۱۵ واحد به صورت مقدار ثابت برای هر حیوان و نه بر اساس واحد وزن، تجویز شد. دوزهای انتخاب‌شده توکسین بوتولینوم نوعA (۳، ۶ و ۱۵ واحد) (۱۰, ۱۱) بر اسـاس مطالعه قبلی انجام‌شده توسـط گروه پژوهشی حاضر و گزارش مطالعات پیشـین که اثرات وابسته به دوز بوتولینوم را در مدل‌های حیوانی بررسی کرده‌اند، انتخاب شـدند. همچنین دوز ریواستیگمین (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر اسـاس مطالعات پیشـین که اثرات تعدیل‌کننده این دارو بر سیسـتم کولینرژیک مرکـزی را ارزیابی کرده‌اند، انتخاب شد.تسـت‌های رفتاری شـامل: تسـت مـاز مثبـت مرتفـع(Elevated Plus (Maze; EPM، تسـت محوطه باز (Open Field Test; OFT) و تسـت شنای اجبـاری (Forced Swim Test; FST) ۴هفته بعد بر روی رت ها انجام شـدند(۱۲). به منظور کاهـش تأثیر احتمالی انجام یـک آزمون بر آزمون بعدی، آزمون‌ها با فاصله زمانی مناسب انجام شدند. بین آزمون‌ها حداقل ۲۴ ساعت فاصله در نظر گرفته شد.

آزمون ماز مثبت مرتفع، مدلي براي ارزيابي رفتارهاي اضطرابي و ريسـک پذيري است كه مرتبط با مدارهاي قشر مغزي است و براي شناسايي اثرات داروها و مواد شـيميايي بر رفتارهاي شـبه اضطرابي جوندگان استفاده مي شـود. اين مـاز از جنس چوب بوده و به شـكل بعلاوه (+) اسـت، كه ۵۰ سانتيمتر بالاتر از سطح زمين قرار دارد و داراي دو بازوي باز (بدون ديواره و ايمني) و دو بازوي بسته (داراي ديواره و ايمن) است. در مدت ۵ دقیقه ای که حیوان آزادانه در قسـمت‌های مختلف ماز حرکت می کرد، تعداد ورود به بازوهای باز و کل زمان سپری شده در بازوهای باز با استفاده از سیستم (XT Ethovision videotracking) ثبت گردید. منظور از ورود به بازو، هنگامي اسـت كه هر چهار پاي حيوان در بـازوي مورد نظر قرار گيرد. ماز پس از هر بار آزمایش کاملا تمیز می‌شـد تـا بوی حیوانات بر روی آزمایش اثری نگذارد.

بـرای هر حیوان درصد ورود بـه بازوی باز و درصد زمان گذرانده شـده در بازوی باز به طریق زیر محاسبه گردید:

زمان سپری شدن در بازوی باز = زمان ماندن در بازوی باز تقسیم بر زمان ماندن در بازوهای باز و بسته × ۱۰۰

دفعات ورود به بازوی باز = تعداد ورود به بازوی باز تقسـیم بر تعداد ورود به بازوهای باز و بسته × ۱۰۰

کـه افزايش معني دار در اين دو پارامتر نشـان دهنده كاهش اضطراب در اين تست است.

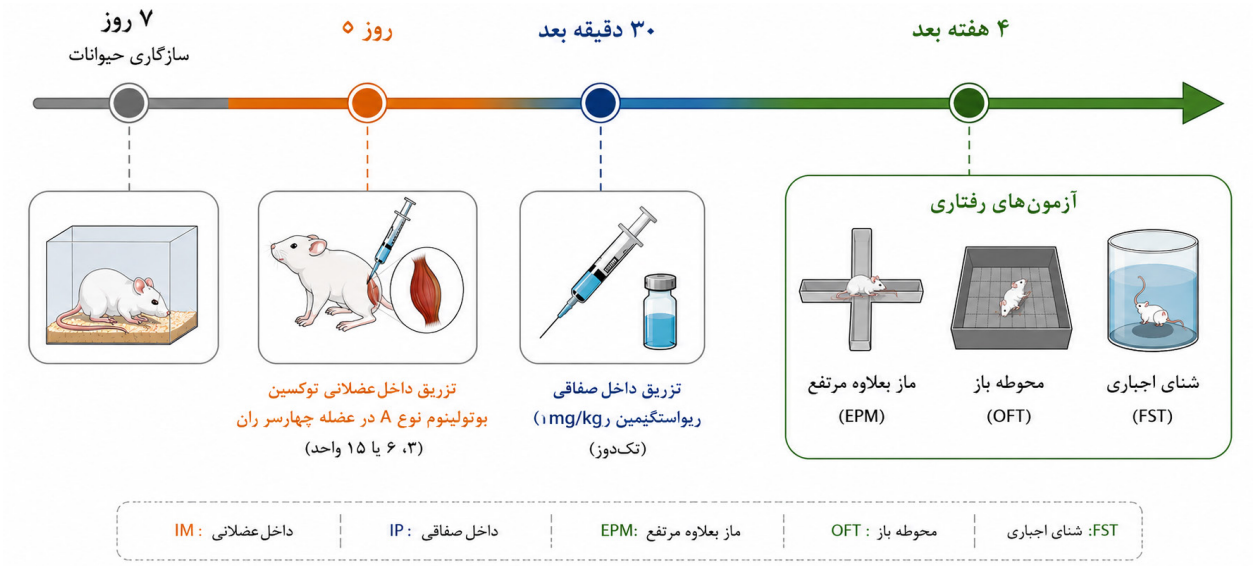
آزمون تسـت محوطه باز به منظور ارزیابی میزان اضطراب حیوان استفاده می شود. این آزمون با استفاده از محفظه چوبی به ابعاد ۱۰۰ × ۱۰۰سانتی متر و ارتفاع ۳۰ سـانتی متر صورت می گیرد. داخل محفظه به ۲۵ قسمت مسـاوی به ابعاد ۲۰×۲۰سانتی متر تقسیم شده اسـت، حیوانات در زمان مقرر در خانه مرکزی قرار داده شدند و رفتار حیوان به مدت پنج دقیقه مورد بررسی قرار گرفت.

اعمال مورد بررسی قرار گرفته شده شامل:

۱) مدت زمانی که حیوان در کل خانه های مرکزی قرار گرفت.
۲) تعداد دفعاتی که حیوان وارد خانه های مرکزی شد.

براي سـنجش افسـردگي مدل رفتاري شـناي اجباري مورد استفاده قرار

گرفت. این ابزار از جنس پیرکس یا پلکسي گلاس به شکل استوانه ای دارای قطر ۳۵ سانتی متر و ارتفاع۴۵ سانتی متر شامل آبی به عمق ۳۰ سانتی متر و دمای۲۳±۱ ℃ بود. حیوان به آرامي از ارتفاع ۲۰ سانتیمتري داخل ظرف آزمون قرار گرفت. زمان انجام آزمایش شناي اجباري ۶ دقیقه بود، دو دقیقه نخست براي تطابق حیوان با شرایط موجود در نظر گرفته شد ودر ۴ دقیقه بعدی زمان بي حرکتي توسط کرونومتر ثبت گردید و افزایش مدت زمان بی حرکتی به عنوان شاخص رفتار افسردگی در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که در بخش دیگری از این پروژه که نتایج آن پیش‌تر منتشر شده است، سطح استیل‌کولین و فعالیت آنزیم استیل‌کولین‌استراز در بافت هیپوکمپ مورد ارزیابی قرار گرفت.



شکل ۱- زمان‌بندی مراحل انجام مطالعه

تجزیه و تحلیل داده‌ها

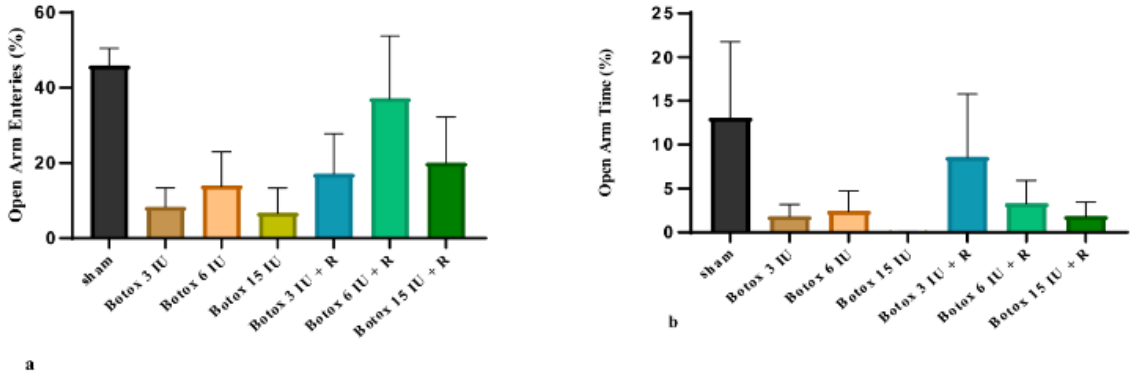
ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro بررسی شد. سپس برای مقایسه پارامترها بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. نتایج به صورت میانگین ±خطاي استاندارد (SEM ± Mean) گزارش شدند. برای تجزیه و تحلیل آماری و رسم نمودارها از نرم افزار GrahpPhad Prism ۹ استفاده شد. در تمام موارد P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اثر توکسین بوتولینوم نوع A و ریواستیگمین بر شاخص‌های رفتاری در آزمون ماز بعلاوه مرتفع

نتایج آزمون ماز بعلاوه مرتفع نشان داد که درصد ورود به بازوهای باز (نمودار a) و مدت زمان حضور (نمودار b) در بازوهای باز در گروه‌های دریافت‌کننده توکسین بوتولینوم نوع A با دوزهای ۳، ۶ و ۱۵ واحد در مقایسه با گروه شم کاهش یافت. با این حال، این تغییرات در هیچ‌یک از گروه‌های دریافت‌کننده بوتولینوم از نظر آماری معنی‌دار نبود.

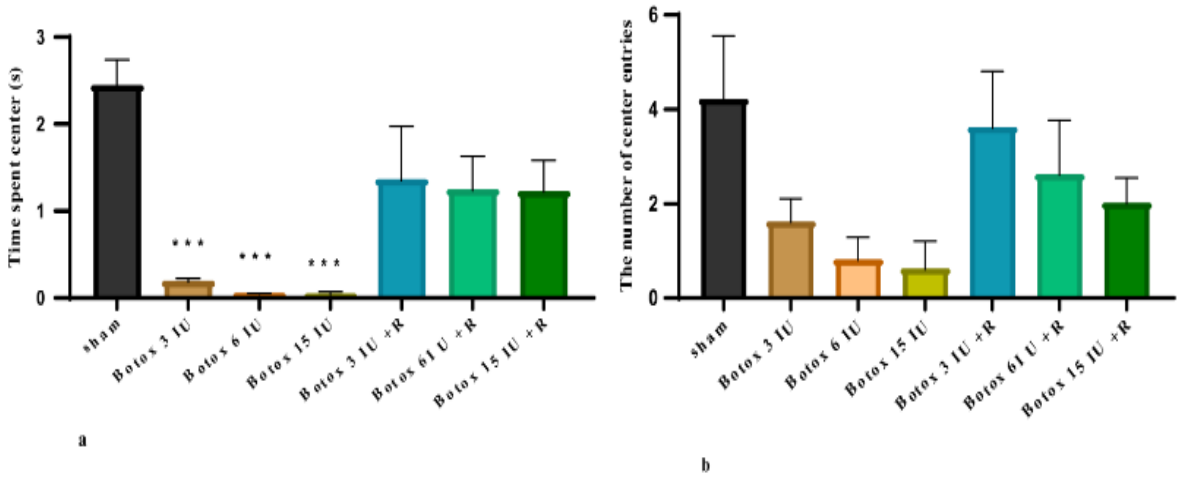
در گروه‌های دریافت‌کننده بوتولینوم همراه با ریواستیگمین، افزایش عددی درصد ورود به بازوهای باز و مدت زمان حضور در بازوهای باز در مقایسه با گروه‌های متناظر دریافت‌کننده بوتولینوم بدون ریواستیگمین مشاهده شد، اما این تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبودند.



نمودار ۱- تاثیر بوتولینوم (۳، ۶ و ۱۵ واحد) و ریواستیگمین بر دفعات تردد (aو مدت زمان ترددb) در تست ماز مثبت مرتفع.

اثر توکسین بوتولینوم نوع A و ریواستیگمین بر شاخص‌های رفتاری در آزمون محوطه باز

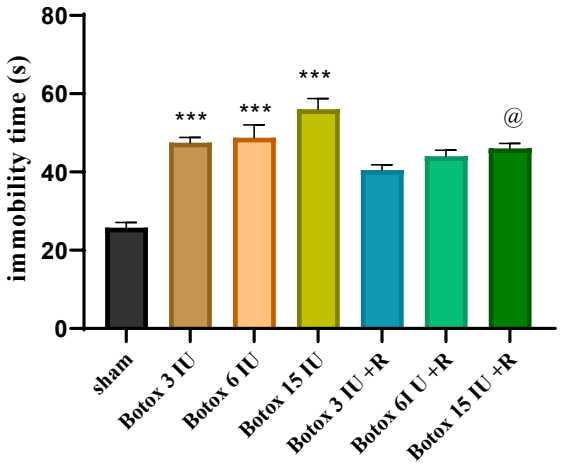
بررسی نتایج آزمون محوطه باز نشان داد که مدت زمان حضور (نمودارa) در ناحیه مرکزی در گروه‌های دریافت‌کننده توکسین بوتولینوم نوع A با دوزهای ۳، ۶ و ۱۵ واحد در مقایسه با گروه شم کاهش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۰۱). تعداد ورود به ناحیه مرکزی(نمودارb) در حیوانات دریافت‌کننده بوتولینوم نسبت به گروه شم کاهش یافت اما از نظر آماری به سطح معنی‌دار نرسید. در گروه‌های دریافت‌کننده بوتولینوم همراه با ریواستیگمین، در مقایسه با گروه‌های متناظر دریافت‌کننده بوتولینوم بدون ریواستیگمین، تغییرات عددی در مدت زمان حضور و تعداد ورود به ناحیه مرکزی مشاهده شد، اما این اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نبودند.



نمودار۲- تاثیر بوتولینوم (۳، ۶ و ۱۵ واحد) و ریواستیگمین بر مدت زمان حضور در مرکز (a) و دفعات ورود به مرکز (b) در آزمون محوطه باز P<۰/۰۰۱ * در مقایسه با گروه شم**

اثر توکسین بوتولینوم نوع A و ریواستیگمین بر رفتار در آزمون شنای اجباری

نتایج آزمون شنای اجباری نشان داد که زمان بی‌حرکتی در گروه‌های دریافت‌کننده توکسین بوتولینوم نوع A با دوزهای ۳، ۶ و ۱۵ واحد در مقایسه با گروه شم افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۰۱). در گروه دریافت‌کننده ۱۵ واحد بوتولینوم همراه با ریواستیگمین، زمان بی‌حرکتی در مقایسه با گروه دریافت‌کننده ۱۵ واحد بوتولینوم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). در گروه‌های دریافت‌کننده ۳ و ۶ واحد بوتولینوم همراه با ریواستیگمین نیز کاهش عددی زمان بی‌حرکتی نسبت به گروه‌های متناظر دریافت‌کننده بوتولینوم بدون ریواستیگمین مشاهده شد، اما این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبود.



نمودار ۳- تاثیر بوتولینوم (۳، ۶ و ۱۵ واحد) و ریواستیگمین بر رفتار شبه افسردگی در تست شنای اجباری. *** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه شم،۰/۰۵ >P@ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده بوتولینوم ۱۵ واحد

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر توکسین بوتولینوم نوع A و نقش احتمالی تعدیل سیستم کولینرژیک توسط ریواستیگمین بر رفتارهای مرتبط با اضطراب و افسردگی در رت‌های نر انجام شد. یافته‌های این پژوهش نشان داد که تجویز داخل‌عضلانی بوتولینوم نوع A می‌تواند با تغییر در برخی شاخص‌های رفتاری مرتبط با اضطراب و رفتارهای مقابله‌ای همراه باشد. کاهش رفتار اکتشافی در آزمون محوطه باز و افزایش زمان بی‌حرکتی در آزمون شنای اجباری، بیانگر تغییر در پاسخ‌های رفتاری حیوانات پس از مواجهه با بوتولینوم بود. در حالی که عدم مشاهده تغییر معنی‌دار در آزمون ماز بعلاوه مرتفع نشان می‌دهد که اثرات رفتاری بوتولینوم ممکن است به نوع آزمون و جنبه مورد ارزیابی از رفتار وابسته باشد. از آن‌جا که آزمون‌های رفتاری مورد استفاده تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله فعالیت حرکتی، انگیزش و پاسخ به استرس قرار دارند، تفسیر این یافته‌ها باید با در نظر گرفتن اثرات احتمالی محیطی و عصبی-عضلانی ناشی از بوتولینوم انجام شود.

آزمون محوطه باز علاوه بر رفتارهای مرتبط با اضطراب، تحت تأثیر سطح فعالیت حرکتی و اکتشاف حیوان نیز قرار دارد. بنابراین، تغییرات مشاهده‌شده در این آزمون باید با در نظر گرفتن احتمال تأثیر عوامل حرکتی ناشی از تزریق بوتولینوم تفسیر شود. از سوی دیگر، آزمون شنای اجباری بیشتر برای ارزیابی رفتارهای مرتبط با مقابله با استرس و سازگاری رفتاری مورد استفاده قرار می‌گیرد و افزایش زمان بی‌حرکتی پس از تجویز بوتولینوم نشان‌دهنده تغییر در این شاخص رفتاری است. نتایج حاصل از تجویز ریواستیگمین نشان داد که در گروه دریافت‌کننده ۱۵ واحد بوتولینوم همراه با ریواستیگمین، زمان بی‌حرکتی در آزمون شنای اجباری نسبت به گروه دریافت‌کننده ۱۵ واحد بوتولینوم کاهش معنی‌داری داشت. با این حال، در سایر شاخص‌های رفتاری، تغییرات مشاهده‌شده پس از تجویز ریواستیگمین از نظر آماری معنی‌دار نبودند. بنابراین، بر اساس یافته‌های حاضر نمی‌توان اثر گسترده ریواستیگمین بر تمامی تغییرات رفتاری ناشی از بوتولینوم را نتیجه‌گیری کرد. بوتولینوم نوع A عمدتاً به‌عنوان مهارکننده آزادسازی استیل‌کولین در محل اتصال عصب-عضله شناخته می‌شود(۱۳). با این حال، برخی مطالعات احتمال اثرات آن بر سیستم عصبی مرکزی را از طریق مکانیسم‌هایی مانند انتقال رتروگراد آکسونی و تغییر در آزادسازی نوروترنسمیترها مطرح کرده‌اند(۵). با توجه به اینکه در مطالعه حاضر شاخص‌های مستقیم سیستم کولینرژیک اندازه‌گیری نشدند، نمی‌توان نقش این سیستم را به‌عنوان علت مستقیم تغییرات رفتاری مشاهده‌شده اثبات کرد. با این حال، یافته‌های قبلی گروه پژوهشی حاضر که کاهش سطح استیل‌کولین و افزایش فعالیت استیل‌کولین‌استراز هیپوکمپ پس از تجویز بوتولینوم را گزارش کرده‌اند(۱۰)، این احتمال را مطرح می‌کنند که تغییرات کولینرژیک ممکن است در برخی اثرات رفتاری بوتولینوم نقش داشته باشند. مطالعات پیشین درباره اثرات عصبی بوتولینوم نتایج متفاوتی ارائه کرده‌اند. برخی مطالعات اثرات تعدیل‌کننده یا محافظتی بوتولینوم را در شرایط خاص گزارش کرده‌اند(۶)، در حالی که برخی دیگر تغییرات نامطلوب شناختی یا رفتاری را نشان داده‌اند(۱۴). تفاوت در دوز مورد استفاده، مسیر تجویز، مدت زمان بررسی و مدل آزمایشی می‌تواند از عوامل مؤثر بر این اختلافات باشد. یافته‌های مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد که اثرات رفتاری بوتولینوم ممکن است وابسته به شرایط آزمایش و نوع شاخص مورد ارزیابی باشد.

مطالعه حاضر دارای چندین محدودیت است که باید در تفسیر نتایج مورد توجه قرار گیرد. گروه دریافت‌کننده ریواستیگمین به‌تنهایی در طراحی مطالعه وجود نداشت، بنابراین اثر مستقل این دارو بر رفتارهای مورد بررسی قابل ارزیابی نیست. از آنجایی که بوتولینوم به‌صورت داخل‌عضلانی تجویز شد، احتمال تأثیر عوامل مرتبط با عملکرد عصبی-عضلانی بر برخی آزمون‌های رفتاری وجود دارد. انجام آزمون‌های اختصاصی حرکتی در مطالعات آینده می‌تواند به تفکیک بهتر اثرات محیطی و مرکزی بوتولینوم کمک کند. همچنین، با توجه به تجویز تک‌دوز ریواستیگمین و انجام آزمون‌های رفتاری چهار هفته بعد، تفسیر اثرات طولانی‌مدت این دارو باید

با احتیاط انجام شود.

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز داخل‌عضلانی توکسین بوتولینوم نوع A بـا تغییر در برخی رفتارهای مرتبط با اضطراب و افسـردگی در رت‌های نر همراه اسـت. همچنین، ریواستیگمین توانسـت بخشی از این تغییرات رفتاری، به‌ویژه رفتار مرتبط با آزمون شـنای اجباری، را تعدیل کند. اگرچه این اثر در تمامی شـاخص‌های رفتاری مشاهده نشـد. این یافته‌ها مطرح می‌کنند که تغییرات رفتاری ناشـی از بوتولینوم ممکن اسـت با مشـارکت مسـیرهای عصبی مختلف، از جمله سیسـتم کولینرژیک، ایجاد شوند. با ایـن حال، برای تعیین نقش دقیق این مسـیرها انجـام مطالعات تکمیلی ضروری است.

References

1. Dulawa SC, Janowsky DS. Cholinergic regulation of mood: from basic and clinical studies to emerging therapeutics. Mol Psychiatry. 2019;24(5):694-709.
2. Picciotto MR, Higley MJ, Mineur YS. Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. Neuron. 2012;76(1):116-29.
3. Shi HJ, Wang S, Wang XP, Zhang RX, Zhu LJ. Hippocampus: Molecular, Cellular, and Circuit Features in Anxiety. Neurosci Bull. 2023;39(6):1009-26.
4. Mineur YS, Obayemi A, Wigestrand MB, Fote GM, Calarco CA, Li AM, et al. Cholinergic signaling in the hippocampus regulates social stress resilience and anxiety- and depression-like behavior. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(9):3573-8.
5. Galazka M, Soszynski D, Dmitruk K. Central Action of Botulinum Toxin Type A–Is It Possible? Neurophysiology. 2015;47(4):326-36.
6. Yesudhas A, Roshan SA, Radhakrishnan RK, Abirami GP, Manickam N, Selvaraj K, et al. Intramuscular injection of BOTOX® boosts learning and memory in adult mice in association with enriched circulation of platelets and enhanced density of pyramidal neurons in the Hippocampus. Neurochemical Research. 2020;45(12):2856-67.
7. Moreno-Lopez B, Pastor A, De La Cruz R, Delgado-Garcia J. Dose-dependent, central effects of botulinum neurotoxin type A: a pilot study in the alert behaving cat. Neurology. 1997;48(2):456-64.
8. Jann MW. Rivastigmine, a new-generation cholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy. 2000;20(1):1-12.
9. Eldufani J, Blaise G. The role of acetylcholinesterase inhibitors such as neostigmine and rivastigmine on chronic pain and cognitive function in aging: A review of recent clinical applications. Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions. 2019;5:175-83.
10. Mehri K, Oskuye ZZ, Nassireslami E, Karami E, Parvizi MR. Rivastigmine ameliorates botulinum-induced hippocampal damage and spatial memory impairment in male rats. Neurotoxicology. 2023;98:29-38.
11. Pingel J, Nielsen MS, Lauridsen T, Rix K, Bech M, Alkjaer T, et al. Injection of high dose botulinum-toxin A leads to impaired skeletal muscle function and damage of the fibrilar and non-fibrilar structures. Scientific reports. 2017;7(1):14746.
12. Franz CK, Puritz A, Jordan LA, Chow J, Ortega JA, Kiskinis E, et al. Botulinum toxin conditioning enhances motor axon regeneration in mouse and human preclinical models. Neurorehabilitation and neural repair. 2018;32(8):735-45.
14. Matak I, Bölcskei K, Bach-Rojecky L, Helyes Z. Mechanisms of botulinum toxin type A action on pain. Toxins. 2019;11(8):459.
14. Chacon-De-La-Rocha I, Fryatt GL, Rivera AD, Restani L, Caleo M, Gomez-Nicola D, et al. The synaptic blocker botulinum toxin A decreases the density and complexity of oligodendrocyte precursor cells in the adult mouse hippocampus. Journal of Neuroscience Research. 2021;99(9):2216-27.