ORIGINAL ARTICLE

Anxiety–related Behavioral Alterations Following Repeated Paraoxon Exposure in Rats

Moslem Mohammadi,
Behzad Parsi

Assistant Professor, Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received May 7, 2014 ; Accepted September 24, 2014)

Abstract

Background and purpose: Organophosphate (OP) compounds exert toxicity by inhibition of acetylcholinesterase (AChE), leading to the accumulation of acetylcholine in cholinergic synapses and overstimulation of the cholinergic system. Hyperactivity of brain cholinergic system can contribute to the pathophysiology of anxiety. The purpose of this study was to investigate the influence of repeated exposure to paraoxon on behaviors related to anxiety in male adult rats.

Materials and methods: Adult male Wistar rats were repeatedly exposed to paraoxon at daily doses of 0.1, 0.2, and 0.3 mg/kg, IP for 14 days. Following a recovery period of 24 hours, the anxiety level was determined using behavioral tests (elevated plus-maze and elevated T-maze).

Results: Plasma and brain ChE activity was inhibited in a dose dependent manner by paraoxon. Paraoxon (0.3 mg/kg) increased the percentage of entry in the open arms and the time spent on the open arms in the elevated plus-maze ($P<0.05$). Results of the elevated T-maze showed that 0.3 mg/kg paraoxon increased escape latency and decreased avoidance latencies ($P<0.001$).

Conclusion: Results showed that repeated exposure to 0.3 mg/kg paraoxon exerts anxiolytic-like effects in the elevated plus-maze and elevated T-maze.

Keywords: Paraoxon, anxiety, elevated plus-maze, elevated T-maze

J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(117): 116-124 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۱۷ مهر سال ۱۳۹۳ (۱۲۴-۱۱۶)

تغییرات رفتاری مرتبط با اضطراب به دنبال مواجهه مکرر موش‌های صحرایی با پاراکسان

مسلم محمدی

بهزاد پارسی

چکیده

سابقه و هدف: مسمومیت با ترکیبات ارگانوفسفره از طریق مهار استیل‌کولین‌استراز، تجمع استیل‌کولین در سیناپس‌های کولینرژیک و تحریک بیش از حد سیستم کولینرژیک ایجاد می‌شود. فعالیت بیش از حد سیستم کولینرژیک مغز می‌تواند در پاتوفیزیولوژی اضطراب نقش داشته باشد. هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر مواجهه مکرر با پاراکسان بر رفتارهای مرتبط با اضطراب در موش‌های صحرایی نر بالغ بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) استفاده شدند. دوزهای ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن پاراکسان، روزانه و به مدت ۱۴ روز از طریق داخل صفاقی تزریق شد. پس از یک دوره ریکاوری ۲۴ ساعته، رفتارهای اضطرابی با استفاده از آزمایش‌های ماز بعلاوه‌ای شکل و تی‌شکل مرتفع بررسی شد.

یافته‌ها: پاراکسان به صورت وابسته به دوز منجر به مهار فعالیت کولین‌استراز پلاسما و مغز شد. تنها دوز ۰/۳ پاراکسان توانست منجر به افزایش معنی‌دار درصد ورود به بازوهای باز و درصد زمان حضور در بازوهای باز ماز بعلاوه‌ای شکل ($p<۰/۰۵$) و افزایش تأخیر در فرار و کاهش تأخیر اجتناب در ماز تی‌شکل ($p<۰/۰۰۱$) شود.

استنتاج: نتایج نشان داد، مواجهه مکرر با دوز ۰/۳ پاراکسان اثرات از بین برنده اضطراب در ماز بعلاوه‌ای شکل و تی‌شکل مرتفع داشت.

واژه های کلیدی: پاراکسان، اضطراب، ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع، ماز تی‌شکل مرتفع.

مقدمه

نورون‌ها و گیرنده‌های کولینرژیک مغز در فرایند اضطراب نقش دارند. شواهد بالینی مبنی بر تأثیر استیل‌کولین بر اضطراب انسان عمدتاً بر پایه مطالعات صورت گرفته در بیماران مبتلا به آلزایمر می‌باشد. آلزایمر با کاهش عملکرد سیستم کولینرژیک همراه است و حدود ۳۳ درصد بیماران مبتلا به آلزایمر از اختلالات اضطرابی رنج می‌برند. درمان این بیماران با مهارکننده‌های کولین‌استراز منجر به کاهش سطح اضطراب می‌شود(۱).

شواهد تجربی اثبات‌کننده نقش استیل‌کولین در اضطراب از مدل‌های حیوانی اضطراب برگرفته شده است. به طور مثال تزریق سیستمیک فیزوستیگمین (مهارکننده

مولف مسئول: مسلم محمدی- ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)، دانشکده پزشکی استادیار، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران E-mail: Mohammadimo@yahoo.com

تاریخ دریافت : ۱۳۹۳/۲/۱۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۳/۵/۱۴ تاریخ تصویب : ۱۳۹۳/۷/۲

استیل‌کولین‌استراز) منجر به کاهش ترس و اضطراب در موش‌های صحرایی می‌شود(۲). به‌علاوه گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی استیل‌کولین نیز در فرایند اضطراب شرکت دارند. تزریق سیستمیک آنتاگونیست‌های موسکارینی منجر به افزایش اضطراب در آزمایش ماز بعلاوه‌ای شکل شده است(۳). فعال شدن گیرنده‌های موسکارینی در ناحیه اینفرالیمبیک منجر به افزایش اضطراب می‌شود(۴)، درحالی‌که گیرنده‌های نیکوتینی و موسکارینی هیپوکامپ در کاهش سطح اضطراب نقش دارند(۵). تزریق سیستمیک آگونیست‌های نیکوتینی اضطراب را کاهش می‌دهند(۶)، در حالی‌که افزایش میزان اضطراب به دنبال تزریق نیکوتین نیز گزارش شده است(۷).

ترکیبات ارگانوفسفره گروه بزرگی از عوامل شیمیایی هستند که اکثر آن‌ها به عنوان آفت‌کش مورد استفاده قرار می‌گیرند. اثر اصلی این ترکیبات، مهار فعالیت آنزیم استیل‌کولین‌استراز (Acetylcholinesterase=AChE) است که منجر به تجمع استیل‌کولین در سیناپس‌های کولینرژیک مرکزی و محیطی و متعاقباً بروز علایم ناشی از تحریک بیش از حد کولینرژیک می‌شود(۸). تحریک بیش از حد کولینرژیک منجر به ایجاد تغییرات رفتاری و شناختی متنوعی می‌شود. علی‌رغم این‌که ترکیبات ارگانوفسفره از طریق مهار آنزیم استیل‌کولین‌استراز عمل می‌کنند، اثرات آن‌ها تنها به سیستم کولینرژیک محدود نمی‌شود و تعداد زیادی از سیستم‌های نوروترانسمیتری مانند سیستم سروتونین(۹)، سیستم گابا(۱۰) و سیستم گلوتامات (۱۱) را نیز دستخوش تغییر قرار می‌دهند. به دلیل وجود تنوع زیاد در ساختمان شیمیایی ترکیبات ارگانوفسفره، تفاوت‌های بارزی در مورد سایر اثرات غیر وابسته به مهار استیل‌کولین‌استراز این عوامل وجود دارد و می‌بایست هر یک از این ترکیبات را به طور جداگانه مورد بررسی قرار داد(۱۲،۱۱).

در چندین مطالعه حیوانی، تغییرات رفتاری مرتبط با اضطراب به دنبال مواجهه حاد یا مزمن با حشره‌کش‌های ارگانوفسفره بررسی شده است. گزارشات متناقضی در مورد رابطه بین مواجهه و مسمومیت با ترکیبات ارگانوفسفره و اضطراب وجود دارد. کاهش میزان اضطراب موش‌های صحرایی نابالغ به دنبال مواجهه مکرر با کلرپیریفوس گزارش شده است(۱۳). نتایج مشابهی نیز به دنبال تزریق دوز منفرد و بالای کلرپیریفوس در موش‌های صحرایی حاصل شده است(۱۴). در تناقض با مطالعات فوق، سایر مطالعات از افزایش میزان اضطراب به دنبال مواجهه با کلرپیریفوس(۱۵،۱۶)، مالاتیون(۱۷) و دیازینون(۱۸) خبر داده‌اند. در اکثر این تحقیقات عمدتاً اثرات این ترکیبات بر مغز در حال تکامل مطالعه شده است، در حالی‌که مغز بالغ نیز می‌تواند تحت تأثیر عوامل محیطی و سایر عوامل نوروتوکسیک قرار گیرد. از این‌رو این مطالعه برای اولین بار به منظور بررسی اثرات مواجهه مکرر با پاراکسان (متابولیت نوروتوکسیک حشره‌کش ارگانوفسفره پاراتیون) بر رفتارهای مرتبط با اضطراب در موش‌های صحرایی نر بالغ طراحی شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰گرم استفاده شد. حیوانات تا زمان آزمایش در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شده و آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. در تمام مراحل کار، موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

پاراکسان (*O,O'*-diethyl-*p*–nitrophenyl phosphate) ازشرکت سیگما و سایر مواد از شرکت مرک خریداری شدند.

از روغن ذرت به عنوان حلال جهت تهیه محلول پاراکسان استفاده شد. محلول‌ها به گونه‌ای ساخته می‌شدند که یک میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق گردد. دوزهای ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن پاراکسان، روزانه و به مدت ۱۴ روز از طریق داخل صفاقی تزریق شد (LD۵۰: ۰/۷mg/kg) (۱۰).

حیوانات گروه کنترل حجم یکسانی از روغن ذرت را دریافت می‌کردند. در کل از ۶۸ سر موش در چهار گروه دریافت کننده دوزهای پاراکسان و روغن ذرت استفاده شد (در هر گروه ۵ سر موش برای اندازه‌گیری فعالیت کولین استراز و ۷ سر موش برای هر یک از تست‌های رفتاری).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم استیل‌کولین استراز پلاسما، قشر مغز و هیپوکامپ (۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق) از روش Ellman و همکاران استفاده شد(۱۹). از بافر ۰/۴۲۳ مولار ۵ و َ۵- دی‌تیوبیس-۲- نیتروبنزوآت (DTNB) به عنوان کروموژن و از غلظت ۰/۱ مولار استیل‌تیوکولین (ATC) به عنوان سوبسترا استفاده شد. افزایش جذب به مدت ۵ دقیقه در طول موج ۴۱۲ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر خوانده شد. محتوای پروتین نمونه‌های بافتی با استفاده از روش برادفورد اندازه‌گیری شد(۲۰). فعالیت کولین‌استراز نمونه‌های بافتی برحسب نانومول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتین و در پلاسما برحسب نانومول در دقیقه به ازای هر میلی‌لیتر پلاسما بیان شد(۲۱).

برای سنجش میزان اضطراب،۲۴ساعت پس از آخرین تزریق از ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع (Elevated plus maze) و ماز تی شکل مرتفع (Elevated T-maze) استفاده شد. ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع از جنس چوب سیاه و دارای چهار بازو به شکل علامت بعلاوه (+) است. ابعاد بازوی باز و بسته ۵۰ در ۱۰ است که در دو طرف و انتهای بازوی بسته دیوارهایی به بلندی ۴۰ سانتی‌متر قرار دارد. برای جلوگیری از سقوط موش، در دو طرف و انتهای بازوی باز لبه‌هایی به ارتفاع یک سانتی‌متر تعبیه شده است. چهار بازو به یک محدوده‌ی مرکزی ۱۰ در ۱۰ سانتی‌متری منتهی می‌شوند. ماز به وسیله پایه‌هایی در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری از سطح زمین قرار می‌گیرد. ماز تی شکل همان ماز بعلاوه‌ای شکل است که یک بازوی بسته آن مسدود شده است. نور مناسب به وسیله یک لامپ ۶۰ واتی که از طرف یک بازوی بسته به ماز تابانده می‌شود، تأمین می‌گردد.

برای انجام تست‌های رفتاری، موش‌ها به طور جداگانه در مرکز ماز به علاوه‌ای شکل رو به بازوی باز قرار می‌گرفتند و به آن‌ها اجازه داده می‌شد به مدت ۵ دقیقه آزادانه به جستجو بپردازند. در این مدت، ناظری که در یک متری ماز نشسته بود، چهار پارامتر را به روش مشاهده‌ای اندازه‌گیری می‌کرد. تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی باز می‌شد، تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی بسته می‌شد، مدت زمانی که حیوان در بازوی باز می‌ماند و مدت زمانی که حیوان در بازوی بسته می‌ماند. (منظور از ورود به بازوی باز یا بسته قرار گرفتن هر چهار پای حیوان در بازوی مورد نظر است.) مدت زمان ماندن در هر بازو نیز بر همین اساس محاسبه می‌شود. برای هر حیوان درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان ماندن در بازوی باز محاسبه می‌شد. افزایش زمان حضور در بازوهای باز یا ورود به بازوهای باز به عنوان فعالیت ضداضطرابی و کاهش این دو شاخص به عنوان رفتار اضطرابی در نظر گرفته می‌شود(۲۲).

برای تعیین عمل اجتنابی مهاری (Inhibitory avoidance task)، حیوان در انتهای دیستال بازوی بسته ماز تی‌شکل رو به تقاطع بازوها قرار می‌گرفت. زمان ترک کامل (خروج چهار پا) از بازوی بسته توسط ناظر اندازه‌گیری و به عنوان تأخیر پایه ثبت می‌شد. از تأخیر پایه به عنوان شاخص ثانویه‌ای برای ارزیابی فعالیت لوکوموتور استفاده می‌شود. عمل فوق در دو آزمایش متوالی دیگر با فاصله ۳۰ ثانیه تکرار می‌شد (اجتناب ۱ و ۲). از آن‌جایی‌که حضور در بازوی باز تجربه خوبی به نظر نمی‌رسد، با انجام آزمایشات متوالی معمولاً خروج از بازوی بسته با تأخیر بیشتری صورت می‌گیرد و حکایت از یادگیری اجتنابی دارد. ۳۰ ثانیه بعد از آخرین آزمایش اجتناب مهاری، حیوان در انتهای یک بازوی باز قرار می‌گرفت و تأخیر در ورود به بازوی بسته ثبت می‌شد (فرار یک‌طرفه). زمان ۳۰۰ ثانیه برای قطع آزمایش در نظر گرفته می‌شد(۲۳). به منظور جلوگیری از بروز خطای احتمالی ناشی از بو یا

بقایای باقی‌مانده از موش‌هایی که قبلاً مورد آزمایش قرار گرفتند؛ پس از هر آزمایش، ماز توسط اتانول ۱۰ درصد تمیز می‌شد.

به منظور مقایسه فعالیت کولین‌استراز قشر مغز و هیپوکامپ از آزمون Independent t-test استفاده شد. فعالیت کولین‌استراز و نتایج حاصل از آزمایشات ماز بعلاوه‌ای شکل و تی شکل با استفاده از آزمون One-way analysis of variance (ANOVA) مقایسه شدند، در صورت معنی‌دار بودن از پس‌آزمون Tukey برای مقایسه بعدی استفاده شد. $p<۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

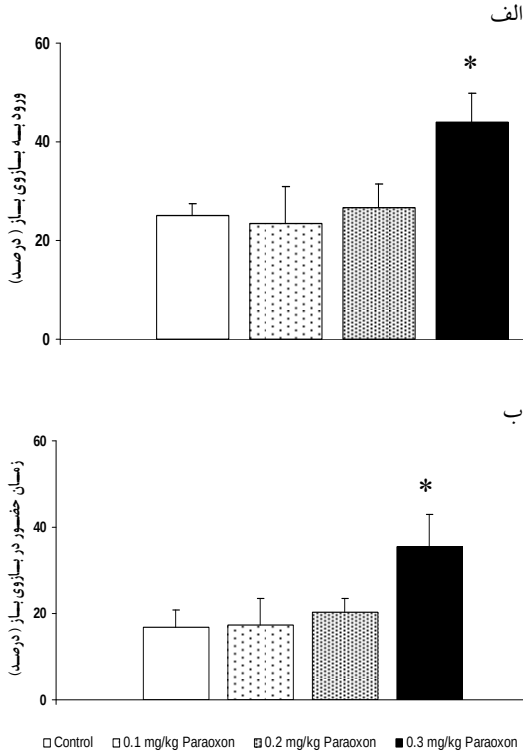
در گروه کنترل، فعالیت کولین‌استراز پلاسما ۵/۷ ± ۲۵۲/۲ نانومول در دقیقه به ازای هر میلی‌لیتر و در قشر مغز و هیپوکامپ به ترتیب ۱/۸ ± ۹۵/۶ و ۱/۹ ± ۶۸/۱ نانومول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتیین بود. فعالیت آنزیم در قشر مغز به‌طور معنی‌دار بیش‌تر از هیپوکامپ بود ($p<۰/۰۵$). تزریق هر سه دوز پاراکسان منجر به مهار قابل ملاحظه و وابسته به دوز فعالیت کولین‌استراز پلاسما (۳۹-۱۰ درصد)، قشر مغز (۵۱- ۱۵ درصد) و هیپوکامپ (۴۸-۱۱ درصد) گردید (جدول شماره ۱).

جدول شماره۱: فعالیت کولین‌استراز پلاسما، قشر مغز و هیپوکامپ موش‌های صحرایی به دنبال مواجهه مکرر با پاراکسان

نمونه	پاراکسان (mg/kg)			
	۰	۰/۱	۰/۲	۰/۳
پلاسما	۵/۷ ± ۲۵۲/۲	۴/۸ ± ۲۲۰/۲	۶/۱ ± ۱۷۲/۸	۴/۲ ± ۱۵۳/۱
		* (۱۰/۳٪)	** (۳۱/۵٪)	** (۳۹/۳٪)
قشر مغز	۱/۸ ± ۹۵/۶	۲/۳ ± ۸۱/۲	۱/۹ ± ۵۹/۷	۱/۱ ± ۴۶/۱
		** (۱۵/۱٪)	** (۳۷/۶٪)	** (۵۱/۸٪)
هیپوکامپ	۱/۹ ± ۶۸/۱	۱/۴ ± ۶۰/۲	۲/۲ ± ۴۳/۴	۱/۶ ± ۳۵/۲
		* (۱۱/۶٪)	** (۳۶/۲٪)	** (۴۸/۴٪)

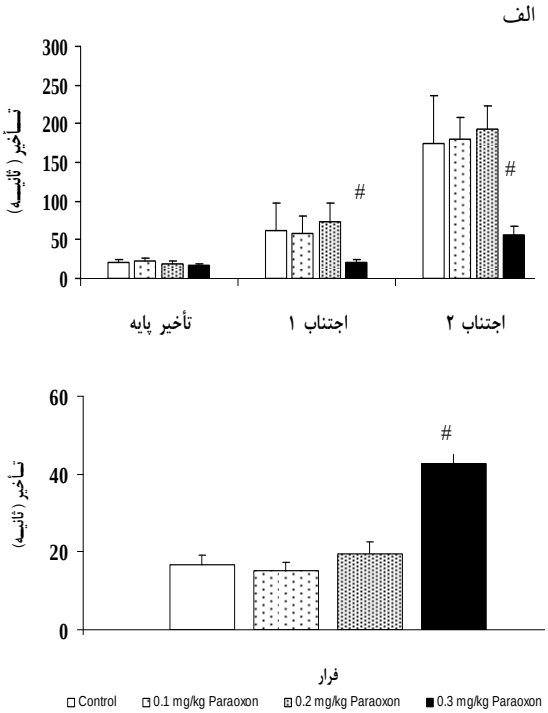
اعداد به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده‌اند. اعداد داخل پرانتز درصد مهار فعالیت آنزیم کولین‌استراز را نشان می‌دهند. * $p < ۰/۰۵$ و ** $p < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل مربوطه

نمودار شماره ۱ اثر تزریق دوزهای مختلف پاراکسان بر درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان ماندن در بازوی باز در آزمایش ماز بعلاوه‌ای شکل را نشان می‌دهد. همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود، تنها دوز ۰/۳ پاراکسان توانست منجر به افزایش معنی‌دار درصد ورود به بازوی باز (نمودار شماره ۱، الف) و درصد زمان حضور در بازوی باز (نمودارشماره ۱، ب) شود ($p<۰/۰۵$).



نمودار شماره ۱: اثرات مواجهه مکرر با دوزهای مختلف پاراکسان بر ورود به بازوی باز (الف) و زمان حضور در بازوی باز (ب) در آزمایش ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع. مقادیر به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده‌اند. * $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با سایر گروه‌ها

نتایج آزمون‌های رفتاری صورت گرفته با استفاده از ماز تی شکل در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است. در هیچ‌کدام از گروه‌های مورد مطالعه تغییر معنی‌داری در تأخیر پایه مشاهده نشد. در آزمایشات اجتناب ۱ و ۲، تنها دوز ۰/۳ پاراکسان منجر به کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۰۱$) تأخیر شده است (نمودار شماره ۲، الف). در آزمایش فرار یک‌طرفه نیز تنها در همین گروه افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) در تأخیر فرار از بازوی باز مشاهده شد (نمودار شماره ۲، ب).



نمودار شماره ۲: اثرات مواجهه مکرر با دوزهای مختلف پاراکسان بر زمان تأخیر در اجتناب (الف) و زمان تأخیر در فرار (ب) در آزمایش ماز تی‌شکل مرتفع. مقادیر به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده‌اند. $^{\#}p < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با سایر گروه‌ها

بحث

پاراکسان به صورت وابسته به دوز منجر به مهار فعالیت کولین‌استراز پلاسما و مغز شد. تنها دوز ۰/۳ پاراکسان به مدت ۱۴ روز توانست منجر به افزایش معنی‌دار درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان حضور در بازوی باز ماز بعلاوه‌ای شکل و افزایش تأخیر در زمان فرار و کاهش تأخیر زمان اجتناب در ماز تی‌شکل شود. این نتایج حکایت از کاهش رفتار اضطرابی به دنبال مواجهه با این دوز دارند.

دوزهای پاراکسان براساس مطالعات قبلی و بر این اساس انتخاب شدند که بدون بروز علایم مسمومیت کولینرژیک منجر به مهار فعالیت استیل‌کولین‌استراز در نواحی مختلف مغز می‌شوند(۲۱). نشانه‌های مسمومیت سیستمیک با عوامل ارگانوفسفره که به دلیل تحریک بیش از حد سیستم کولینرژیک به دنبال مهار آنزیم استیل‌کولین‌استراز بروز می‌کنند، معمولاً زمانی که بیش از ۶۰ تا ۷۰ درصد فعالیت آنزیم مهار شود، ظاهر می‌شوند(۲۴). در مطالعه حاضر حداکثر مهار فعالیت آنزیم در پلاسما و نواحی مغزی به ترتیب کم‌تر از ۴۰ و ۵۲ درصد بود. عدم بروز علایم مسمومیت در این مطالعه، بیانگر آن است که میزان مهار فعالیت آنزیم در طول مطالعه کم‌تر از حد لازم برای بروز علایم بوده است. بالاتر بودن فعالیت استیل‌کولین‌استراز قشر مغز نسبت به هیپوکامپ در گروه کنترل احتمالاً بیانگر عصب‌دهی کولینرژیک بیش‌تر قشر مغز در مقایسه با هیپوکامپ می‌باشد.

نتایج حاصل از آزمون ماز تی‌شکل نشان داد دوز ۰/۳ پاراکسان منجر به افزایش تأخیر در فرار گردید. از آن‌جایی که مطالعات فارماکولوژیک نشان داد، فرار با ترس در ارتباط است(۲۶،۲۵)، بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد تجویز این دوز پاراکسان منجر به از بین بردن ترس در حیوانات شده است. ممکن است استنباط شود افزایش تأخیر در فرار توسط دوز ۰/۳ پاراکسان به دلیل ایجاد اختلال حرکتی بوده است. با این حال ازآن‌جایی که اختلال حرکتی می‌بایست مدت زمان تأخیر پایه و تأخیر در آزمایش اجتناب را نیز افزایش می‌داد(۲۷)، تأخیر ایجاد شده در زمان فرار به دلیل اختلال حرکتی نبوده است.

نتایج مشابهی نیز در مطالعات دیگر حاصل شده است. پنج روز پس از تزریق کلرپیریفوس، زمان حضور و درصد ورود به بازوی باز به طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافته است که حکایت از اثر ضد اضطرابی آن دارد(۱۴). در مطالعه‌ای دیگر، متیل پاراتیون طی چهار روز اول پس از تولد به موش‌های صحرایی تزریق شد و تغییرات رفتاری حاصله پس از ۵۰ روز با استفاده از ماز بعلاوه‌ای شکل مورد بررسی قرارگرفت. نتایج از افزایش معنی‌دار زمان حضور در بازوی باز حکایت داشت که به معنی کاهش سطح اضطراب می‌باشد(۲۸). به‌علاوه گزارش شده انفوزیون فیزوستیگمین در هیپوکامپ منجر به افزایش حضور موش‌های صحرایی در بازوهای باز ماز بعلاوه‌ای شکل شده است(۲۹). این نتایج بیانگر آن است

که افزایش سطح استیل‌کولین در مغز منجر به کاهش اضطراب می‌شود.

برخلاف نتایج مطالعه حاضر و سایر مطالعات فوق‌الذکر، افزایش سطح اضطراب به دنبال مواجهه و مسمومیت با ترکیبات ارگانوفسفره نیز گزارش شده است. کاهش حضور موش‌ها در بازوی باز به دنبال مسمومیت با مالاتیون از افزایش اضطراب توسط این ترکیب حکایت دارد(۱۷). ۴۸ ساعت پس از مواجهه حاد و منفرد با کلرپیریفوس کاهش قابل ملاحظه‌ای در زمان حضور و درصد ورود به بازوهای باز مشاهده شد که بیانگر افزایش سطح اضطراب می‌باشد(۱۶). در حالی‌که به نظر می‌رسد تمامی ترکیبات ارگانوفسفره دارای اثرات رفتاری درازمدت هستند، نتایج حاصل از هر ترکیب می‌تواند کاملاً متفاوت باشد.

بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد اثر ترکیبات ارگانوفسفره به دستگاه مورد استفاده جهت بررسی اضطراب و زمان استفاده از آن ترکیب بستگی دارد. دو تفسیر احتمالی جهت توجیه مشاهده اثرات متفاوت عوامل ارگانوفسفره در مدل‌های حیوانی اضطراب وجود دارد: از یک‌سو ممکن است این ترکیبات سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلفی را در زمان‌ها و در نواحی مختلف مغز تحت تأثیر قرار دهند. از طرف دیگر این عوامل می‌توانند به طور هم‌زمان سیستم‌های عصبی- شیمیایی مختلف مسئول رفتارهای مختلف مثل اضطراب را تعدیل نمایند(۲۸،۱۴).

References

1. Weiner MF, Svetlik D, Risser RC. What depressive symptoms are reported in Alzheimer's patients? Int J Geriatr Psychiatry 1997; 12(6): 648-652.
2. Sienkiewicz-Jarosz H, Członkowska AI, Siemiatkowski M, Maciejak P, Szyndler J, Płaźnik A. The effects of physostigmine and cholinergic receptor ligands on novelty-induced neophobia. J Neural Transm 2000; 107(12): 1403-1412.
3. Rodgers RJ, Cole JC. Effects of scopolamine and its quaternary analogue in the murine elevated plus-maze test of anxiety. Behav Pharmacol 1995; 6(3): 283-289.
4. Wall PM, Flinn J, Messier C. Infralimbic muscarinic M1 receptors modulate anxiety-like behaviour and spontaneous working memory in mice. Psychopharmacology (Berl) 2001; 155(1): 58-68.
5. File SE, Gonzalez LE, Andrews N. Endogenous acetylcholine in the dorsal hippocampus reduces anxiety through actions on nicotinic and muscarinic1 receptors. Behav Neurosci 1998; 112(2): 352-359.
6. Brioni JD, O'Neill AB, Kim DJ, Decker MW. Nicotinic receptor agonists exhibit anxiolytic-like effects on the elevated plus-maze test. Eur J Pharmacol 1993; 238(1): 1-8.
7. Zarrindast MR, Homayoun H, Babaie A, Etminani A, Gharib B. Involvement of adrenergic and cholinergic systems in nicotine-induced anxiogenesis in mice. Eur J Pharmacol 2000; 407(1-2): 145-58.
8. Gupta RC. Brain regional heterogeneity and toxicological mechanisms of organophosphates and carbamates. Toxicol Mech Methods 2004; 14(3): 103-143.
9. Aldridge JE, Levin ED, Seidler FJ, Slotkin TA. Developmental exposure of rats to chlorpyrifos leads to behavioral alterations in adulthood, involving serotonergic mechanisms and resembling animal models of depression. Environ Health Perspect 2005; 113(5): 527-531.

10. Mohammadi M, Ghani E, Ghasemi A, Khoshbaten A, Asgari A. Synaptosomal GABA uptake decreases in paraoxon-treated rat brain. Toxicology 2008; 244(1): 42-48.
11. Slotkin TA, Lobner D, Seidler FJ. Transcriptional profiles for glutamate transporters reveal differences between organophosphates but similarities with unrelated neurotoxicants. Brain Res Bull 2010; 83(1-2): 76-83.
12. Storm JE, Rozman KK, Doull J. Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of red blood cell acetylcholinesterase. Toxicology 2000; 150(1-3): 1-29.
13. Chen WQ, Yuan L, Xue R, Li YF, Su RB, Zhang YZ, et al. Repeated exposure to chlorpyrifos alters the performance of adolescent male rats in animal models of depression and anxiety. Neurotoxicology 2011; 32(4): 355-361.
14. López-Crespo GA, Flores P, Sánchez-Santed F, Sánchez-Amate MC. Acute high dose of chlorpyrifos alters performance of rats in the elevated plus-maze and the elevated T-maze. Neurotoxicology 2009; 30(6): 1025-1029.
15. Braquenier JB, Quertemont E, Tirelli E, Plumier JC. Anxiety in adult female mice following perinatal exposure to chlorpyrifos. Neurotoxicol Teratol 2010; 32(2): 234-239.
16. Sánchez-Amate MC, Flores P, Sánchez-Santed F. Effects of chlorpyrifos in the plus-maze model of anxiety. Behav Pharmacol 2001; 12(4): 285-292.
17. Hashjin GS, Dizaj FS, Attaran H, Koohi MK. Malathion induces anxiety in the male adult mouse. Arch Med Sci 2013; 9(2): 368-371.
18. Ahmed MA, Ahmed HI, El-Morsy EM. Melatonin protects against diazinon-induced neurobehavioral changes in rats. Neurochem Res 2013; 38(10): 2227-2236.
19. Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, feather-stone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol 1961; 7: 88-95.
20. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72: 248-254.
21. Mohammadi M, Ghani E, Ghasemi A, Khoshbaten A, Asgari A. Determination of the inhibition and recovery of the plasma, cerebral cortex and hippocampus acetylcholinesterase activity in male paraoxon-treated rats. J Babol Univ Med Sci 2010; 12(1): 8-15 (Persian).
22. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. J Neurosci Methods 1985; 14(3): 149-167.
23. Graeff FG, Netto CF, Zangrossi H Jr. The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. Neurosci Biobehav Rev 1998; 23(2): 237-246.
24. Moser VC, Padilla S. Age- and gender-related differences in the time course of behavioral and biochemical effects produced by oral chlorpyrifos in rats. Toxicol Appl Pharmacol 1998; 149(1): 107-119.
25. Poltronieri SC, Zangrossi H Jr, de Barros Viana M. Antipanic-like effect of serotonin reuptake inhibitors in the elevated T-maze. Behav Brain Res 2003; 147(1-2): 185-192.
26. Zanoveli JM, Nogueira RL, Zangrossi H Jr. Serotonin in the dorsal periaqueductal gray

modulates inhibitory avoidance and one-way escape behaviors in the elevated T-maze. Eur J Pharmacol 2003; 473(2-3): 153-161.

27. Teixeira RC, Zangrossi H, Graeff FG. Behavioral effects of acute and chronic imipramine in the elevated T-maze model of anxiety. Pharmacol Biochem Behav 2000; 65(4): 571-576.
28. Timofeeva OA, Sanders D, Seemann K, Yang L, Hermanson D, Regenbogen S, et al. Persistent behavioral alterations in rats neonatally exposed to low doses of the organophosphate pesticide, parathion. Brain Res Bull 2008; 77(6): 404-411.
29. Degroot A, Treit D. Dorsal and ventral hippocampal cholinergic systems modulate anxiety in the plus-maze and shock-probe tests. Brain Res 2002; 949(1-2): 60-70.