

مقاله پژوهشی

بررسی اثر ریسپریدون بر القاء وابستگی روانی و تعداد نورون‌های هیپوکامپ در موش‌های صحرائی نر بالغ

زهرا منصوری آرانی^۱، نسرين حیدریه^{۱*}، حمیدرضا بنفشه^۲، غلامرضا قوی پنجه^۲، مجید لطفی‌نیا^۳

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران

۲- گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۳- گروه بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات فیزیولوژی پژوهشکده علوم پایه دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

*مسئول مکاتبات: n.heidarieh@qom-iau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۳

DOI: 10.22034/ascij.2023.1964676.1410

چکیده

وابستگی روانی به مواد، تمایل به مصرف ماده یا چیزی که دارای اثرات لذت بخش بوده و تولید رضایت کند، می‌باشد مواد مختلفی باعث ایجاد این وابستگی می‌شوند. مطالعات قبلی تأثیر احتمالی ریسپریدون را بر سیستم پاداش مغزی و درگیری گیرنده‌های مختلف در ترجیح مکان شرطی شده (CPP) نشان می‌دهد. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ریسپریدون بر القاء وابستگی روانی و تعداد نورون‌های هیپوکامپ طراحی شد. برای این پژوهش از ۴۰ موش صحرائی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۳۰-۲۸۰ گرم استفاده شد. تزریق داخل صفاقی ریسپریدون با دوزهای ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم انجام شد. در پایان آزمایشات هیپوکامپ حیوانات خارج و توسط فرمالین تثبیت و سپس برشگیری شده و پس از رنگ‌آمیزی، برای ارزیابی بافت‌شناسی و شمارش نورونی مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز ریسپریدون با دوز ۲ و ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم موجب افزایش معنی‌دار CPP می‌گردد ($p < 0/05$). همچنین در ارزیابی بافت‌شناسی، در همه گروه‌های ریسپریدون (۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم) تخریب نورونی مشاهده نشد. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که ریسپریدون در دوزهای بالاتر ایجاد باعث افزایش ترجیح مکان شرطی و یادگیری و وابستگی می‌شود و در درمان مورد توجه قرار گیرد.

کلمات کلیدی: ریسپریدون، وابستگی روانی، نورون، هیپوکامپ.

مقدمه

و تولید رضایت کند، می‌باشد. مصرف داروهایی که شادی، نشاط، بی‌تفاوتی نسبت به محرک‌ها و آرامش را به دنبال دارد، باعث پیدایش مرض و ولع روحی جهت استفاده مجدد آنها می‌شود. بر این اساس، رفتار جستجوگرایانه برای دارو ایجاد می‌شود که این رفتار

وابستگی روانی، شامل رفتار جستجوگرانه یا اجبار درونی در جهت جستجوی دارو و تظاهر رفتارهای خاص برای بدست آوردن ماده می‌باشد. در تعریف دیگری منظور از وابستگی روانی به مواد، تمایل به مصرف ماده یا چیزی که دارای اثرات لذت‌بخش بوده

تریپتوفان در رژیم غذایی به طور گسترده به عنوان ابزاری برای ارزیابی نقش سروتونین در عملکرد شناختی و عاطفی در انسان و حیوانات استفاده می‌شود (۱۵).

با این حال تا کنون تحقیقی در مورد اثر ریسپریدون بر ترجیح مکانی شرطی شده و بافت هیپوکامپ در موش صحرائی نر انجام نشده است به این منظور از روش ترجیح مکانی شرطی شده که یک روش استاندارد، کم هزینه و دقیق در بررسی اثرات داروها است (۲۶) استفاده شد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه تجربی از ۴۰ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار، با محدوده وزنی ۲۳۰-۲۸۰ گرم که از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی کاشان خریداری گردید استفاده شد. موش‌ها بطور تصادفی در ۵ گروه هشت‌تایی تقسیم و با شرایط درجه حرارت 1 ± 25 درجه سانتیگراد و رطوبت هوا $38 \pm$ درصد با سیکل روشنایی/خاموش ۱۲ ساعته نگهداری شدند. آب و غذای استاندارد موش (پارس، ایران) همیشه بجز در هنگام آزمایشات در اختیار موش‌ها قرار داشت. در طول پژوهش پروتکل اخلاقی کار با حیوانات (IR.IAU.QOM.REC.1400.078) رعایت گردید. به منظور سازگاری با محیط آزمایشگاه یک هفته پیش از شروع مطالعه، حیوانات در شرایط مذکور قرار داده شدند. ریسپریدون از شرکت مرک آلمان بصورت پودر تهیه و برای تهیه حلال ریسپریدون، ابتدا ۲۰ میلی‌گرم از آن را در ۲/۵ تا ۳ سی سی، DMSO حل کرده، سپس ۵ سی سی آب مقطر و چند قطره توین ۲۰ را به آن اضافه نمودیم سپس سوسپانسیون بدست آمده بصورت داخل صفاقی تزریق شد. جهت انجام آزمایشات ۴۰ موش بزرگ آزمایشگاهی به طور تصادفی به ۵ گروه هشت-

نشانه وابستگی روانی به ماده‌ای که تحریک‌کننده سیستم پاداشی مغز است می‌باشد (۳۶). از مطالعات نورواناتومی مشخص شده که نواحی تگمنتوم شکمی، آمیگدال، قشر پره‌فرونتال، هیپوکامپ، هسته آکومبیس، هیپوتالاموس، هسته رافه و پالیدوم در وابستگی روانی به مواد نقش مهمی را ایفاء می‌کنند. ناحیه CA1 هیپوکامپ در وابستگی روانی و دارویی نقش مهمی دارد (۸). یکی از مهمترین مسیرهای مرتبط با وابستگی دارویی، مسیر دوپامینی مزوکورتیکولیمبیک است که نقش اصلی و مهمی را در وابستگی روانی بازی می‌کند (۱۳). ترجیح مکانی شرطی یا CPP (Conditioned Place Preference) یکی از متداول‌ترین مدل‌های حیوانی است که در تحقیقات مربوط به وابستگی روانی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. CPP نوعی یادگیری است که حیوان بین پاداش و محل مربوطه ارتباط برقرار می‌کند، در نتیجه یادگیری و حافظه نقش مهمی را در توسعه وابستگی دارویی ایفاء می‌کند (۲). مشخص شده است که در انسان خوردن غذا و مایعات شیرین، تحریک الکتریکی مغز و برخی از داروها می‌توانند CPP را القاء کنند (۲۰). ریسپریدون با نام تجاری Risperdal در گروه داروهای ضد جنون و اعصاب و روان جای دارد. و در شکل‌های قرص، شربت و تزریق قابل استفاده است و در پایداری رفتار و افکار فرد مبتلا اثربخش است (۱۸). ریسپریدون آنتی‌سایکوتیک و بلاکر پس-سیناپسی گیرنده سروتونین و دوپامین است که چندین گیرنده دردستگاه عصبی از جمله D2 دوپامینی، سروتونین نوع ۲ (5HT2A) و گیرنده‌های $\alpha 2$ -آدرنژیک را مهار می‌کند (۱۲). سروتونین (5-HT) برای تنظیم بسیاری از عملکردهای فیزیولوژیکی و رفتاری از جمله جنبه‌های خلق و خو، شناخت و اضطراب شناخته شده است. سروتونین از پیش‌ساز اسید آمینه تریپتوفان (TRP) سنتز می‌شود که کاهش

مکانی قرار می‌گیرد تا آزادانه در محیط گردش نماید. با ورود موش به هر قسمت بطور خودکار زمان توقف موش در هر قسمت توسط مانیتور ثبت می‌شود. در هریک از قسمت‌های A یا B که حیوان زمان کمتری را سپری نمود به عنوان اتاقک ریسپریدون و قسمت دیگر به عنوان اتاقک سالیین در نظر گرفته شد.

۲- مرحله شرطی‌سازی: این مرحله شامل روزهای دوم، تا نهم آزمایش است. در این مرحله کلیه دریچه‌های گیوتینی دستگاه بسته شده و از ۸ جلسه ۳۰ دقیقه‌ای تشکیل شده است که بصورت یک در میان ریسپریدون یا سالیین دریافت می‌کنند بدین صورت که در صبح روز دوم، چهارم، ششم و هشتم (ساعت ۸) پس از گذشت ۳۰ دقیقه از تزریق داخل صفاقی ریسپریدون موش‌ها به مدت ۳۰ دقیقه داخل اتاقک ریسپریدون قرار می‌گیرند و در روز سوم، پنجم، هفتم و نهم بعد از تزریق سالیین به مدت ۳۰ دقیقه در اتاقک سالیین قرار می‌گیرند (۳۰). در گروه کنترل درمان ۳۰ دقیقه قبل از قراردادن داخل دستگاه، تزریق داخل صفاقی حلال ریسپریدون یا سالیین انجام شد. سپس موش‌ها را داخل دستگاه در قسمت مربوطه قرار دادیم.

۳- مرحله پس از شرطی‌سازی (مرحله آزمون): در روز دهم دوره، دریچه‌های گیوتینی دستگاه مجدداً باز شده و حیوان داخل قسمت C دستگاه قرار گرفت تا به مدت ۱۵ دقیقه آزادانه داخل دستگاه گردش کند. هر حیوان تنها یکبار آزمایش گردید و زمان توقف حیوان داخل هر قسمت ثبت شد. اختلاف زمان سپری شده بین روز آزمون (روز دهم) و روز اول در قسمت دریافت سالیین بر حسب ثانیه محاسبه شده و به عنوان شاخص ترجیح مکانی مورد استفاده قرار گرفت همچنین به منظور کنترل فعالیت‌های رفتاری حیوان در طی مراحل آزمایش، با استفاده از دوربین مدار بسته‌ای

تایی بصورت زیر تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل که نرمال سالیین را در روزهای شرطی‌سازی (روزهای ۲-۹) بصورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. ۲- گروه کنترل درمان (حلال ریسپریدون) که در حین انجام مراحل شرطی‌سازی، در روزهای ۲، ۴، ۶ و ۸ حلال ریسپریدون به صورت داخل صفاقی دریافت می‌کردند. گروه‌های ۳، ۴، ۵- (گروه تیمار) که در حین انجام مراحل شرطی‌سازی در روزهای ۲، ۴، ۶ و ۸ ریسپریدون در دوزهای ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم (۱۴) دریافت می‌کردند.

روش القا ترجیح مکانی (CPP): برای انجام آزمایش ترجیح مکانی از دستگاه فلزی مخصوصی استفاده شد که از ۳ قسمت A و B و C تشکیل شده است که قسمت‌های A و B آن هم اندازه و به ابعاد $40 \times 30 \times 30$ سانتی‌متر می‌باشند که بوسیله دریچه‌های گیوتینی با قسمت C در ارتباط‌اند. دیواره‌های قسمت A با نوارهای طولی مشکی و سفید تزئین شده و کف آن حالت صاف دارد. دیواره‌های قسمت B با نوارهای عرضی مشکی و سفید تزئین شده که با تزریق ریسپریدون، تاثیر محیط روی رت مشاهده می‌شود. قسمت C بین دو قسمت دیگر دارای ابعاد $15 \times 30 \times 40$ بوده و دیواره‌های آن مشکی هستند. یک عدد دوربین مدار بسته بالای سر دستگاه نصب شده و به مانیتور متصل بود که به محض ورود موش به هر اتاقک شروع به ثبت زمان می‌نمود و در نهایت مقدار زمان سپری شده در هر اتاقک و تعداد دفعات ورود به هر اتاقک را ثبت می‌کرد. در این مطالعه از مدت ترجیح مکانی ۱۰ روزه (۲) استفاده گردید که شامل سه مرحله می‌باشد:

۱- مرحله پیش‌شرطی‌سازی (مرحله آشنائی): این مرحله اولین روز دوره می‌باشد. در این روز دریچه‌های گیوتینی بین قسمت C و قسمت‌های A و B باز و حیوان به مدت ۱۵ دقیقه داخل دستگاه ترجیح

که در بالای سر دستگاه نصب شده بود مورد ارزیابی قرار می‌گرفتند (۳۰).

جداسازی بافت مغز: پس از اتمام مطالعات رفتاری، سر موش‌ها تحت بیهوشی عمیق نزدیک به مرگ، به کمک گیوتین از بدن جدا شده، مغز آنها بطور کامل خارج و در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد سپس مطالعات بافتی روی آنها صورت گرفت.

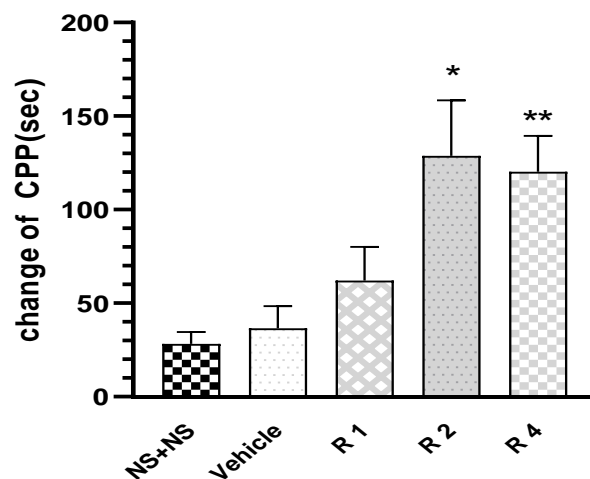
مطالعات بافتی: مطالعه بافت‌شناسی برای مشاهده تغییرات سلول‌های عصبی هیپوکامپ انجام شد. نمونه‌های فیکس شده با فرمالین، آبگیری، شفاف‌سازی و در پارافین آغشته‌سازی شدند. به منظور ارزیابی بافت‌شناسی، مقاطع بافتی به ضخامت ۵ میکرون برش داده شده، سپس برای بررسی منطقه هیپوکامپ، برش‌ها را با ائوزین و هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شد و مطالعات بافتی روی آنها صورت گرفت. پس از مونت شدن توسط میکروسکوپ نوری المپیوس (مدل BX51، ژاپن) مورد مطالعه بافت‌شناسی قرار گرفتند. شاخص مورد مطالعه در مطالعه میکروسکوپی، یکپارچگی ساختار بافتی هیپوکامپ بود. به علاوه تعداد هسته‌های نکروز شده در ناحیه CA1 هیپوکامپ شمارش شد. معیار مورد نظر جهت تشخیص هسته‌های نکروزه در مقایسه با هسته‌های سالم، دفرمه شدن، کوچک شدن و هیپرکروماتین شدن هسته بود. از نواحی CA1 هیپوکامپ و در فیله‌های مختلف، زیر عدسی شیئی ۴۰ توسط دوربین دیجیتال المپیوس (مدل DP71، ژاپن) متصل به کامپیوتر

تصاویر گرفته شد. جهت شمارش هسته‌ها از نرم افزار ImageJ استفاده شد.

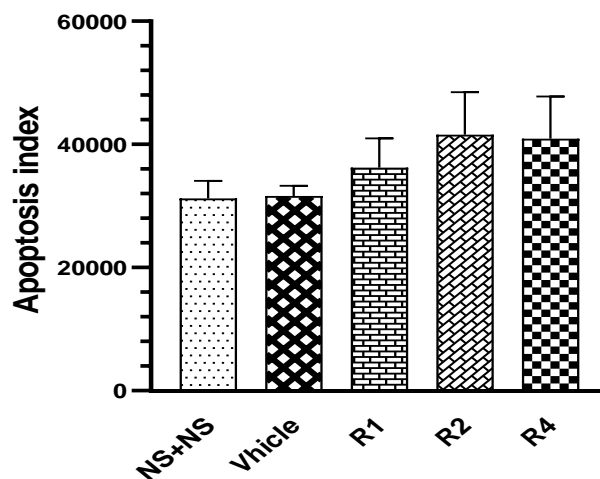
تجزیه و تحلیل داده‌ها: تمامی آنالیزها از لحاظ آماری با نرم‌افزار Prism انجام شد. به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات برای مقایسه بین گروه‌ها از روش آزمون واریانس یکطرفه (ANOVA) و سپس تست توکی و t تست استفاده شد. و بر اساس میانگین \pm خطای استاندارد و با $p < 0/05$ به عنوان حداقل سطح معنی‌داری نمایش داده شد و مطالعات بافتی بر اساس نتایج کیفی بررسی شد. شمارش سلولی با نرم‌افزار Image J انجام شد.

نتایج

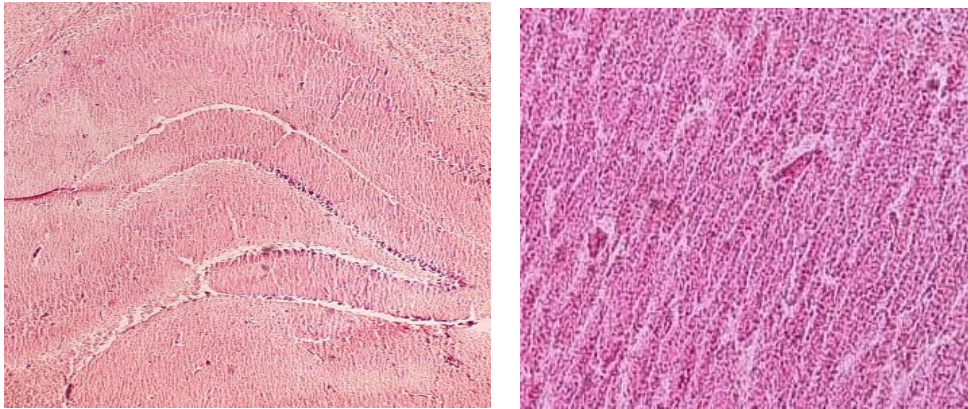
در دوره آزمایش القاء ترجیح مکان شرطی توسط دوزهای مختلف ریسپریدون ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم به همان روشی که ذکر شد مورد بررسی قرار گرفت نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که گروه کنترل نسبت به گروه نرمال سالیین اختلاف معنی‌داری نداشتند همچنین، دوز ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم ریسپریدون اختلاف معنی‌دار $p < 0/05$ نسبت به گروه کنترل نداشت ولی دوزهای بالاتر ریسپریدون (دوز ۲ و ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم) اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشتند. (شکل ۱). نتایج مطالعات بافتی ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف ریسپریدون نشان داد که تقریباً سلول‌ها به حالت طبیعی هستند و مرگ سلولی و هسته‌های هایپرکروم در آنها دیده نمی‌شود.



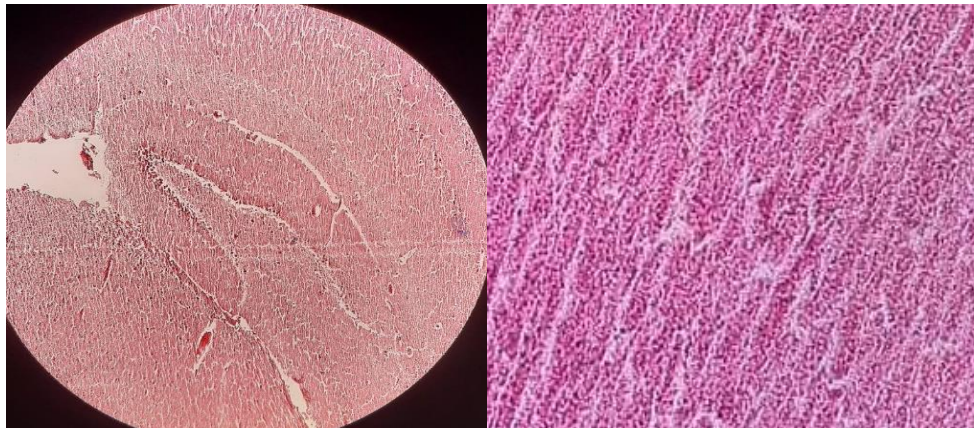
نمودار ۱- اثر دوزهای مختلف ریسپریدون بر CPP در موش‌های صحرایی نر. گروه نرمال سالین با گروه کنترل (vehicle) تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p > 0/05$). و دوز ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم ریسپریدون با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد. دوز ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم ($p > 0/05$) و دوز ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم ریسپریدون با گروه نرمال سالین تفاوت معنی‌داری نشان دادند ($p < 0/01$).



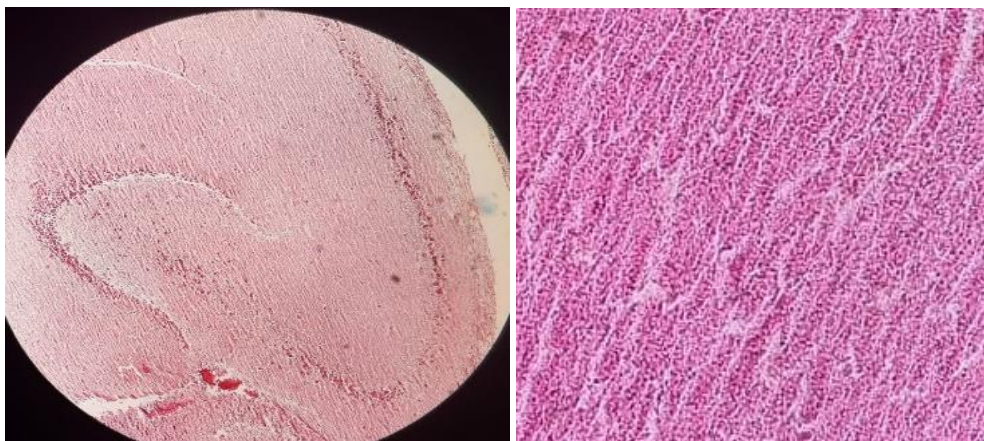
نمودار ۲- بررسی اثر دوزهای مختلف ریسپریدون بر تخریب بافت CA1 هیپوکامپ گروه نرمال سالین با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p > 0/05$). و دوزهای ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم ریسپریدون با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان ندادند ($p < 0/05$).



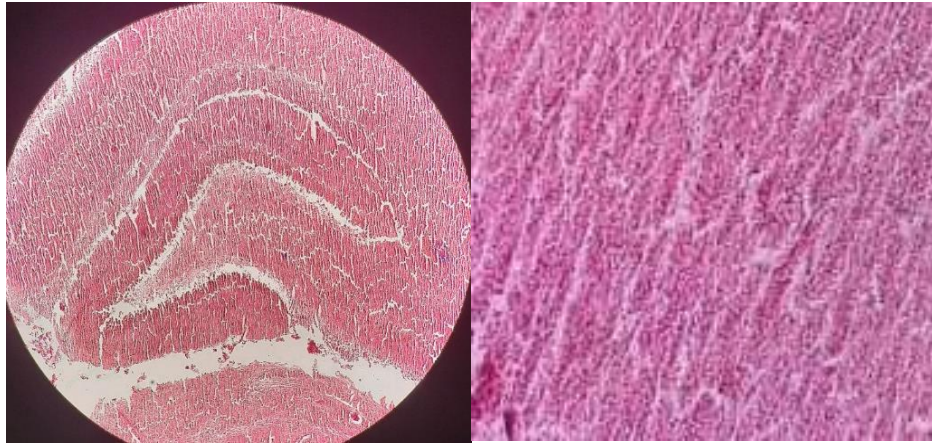
شکل ۱- نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه نرمال سالیین با بزرگ‌نمایی X ۴۰ (سمت راست) و بزرگ‌نمایی X۴۰۰ (سمت چپ)



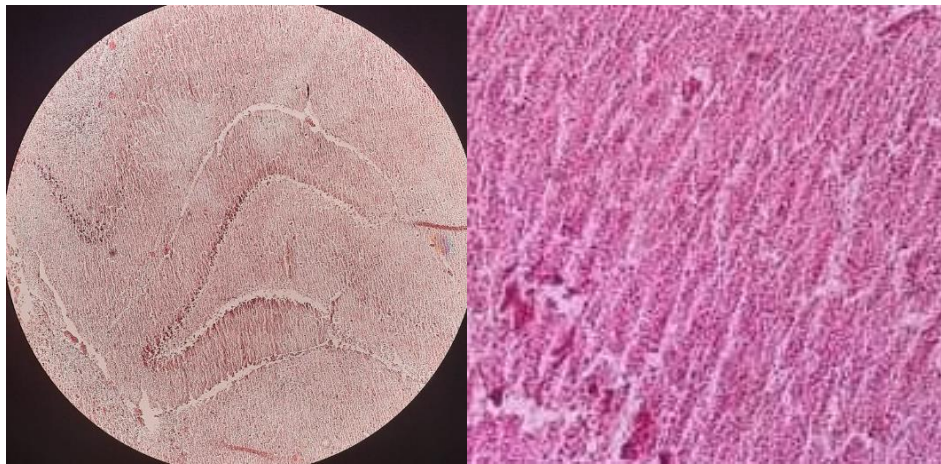
شکل ۲- نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه کنترل (حلال ریسپریدون با بزرگ‌نمایی X ۴۰ (سمت راست) و بزرگ‌نمایی X۴۰۰ (سمت چپ))



شکل ۳- نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه ریسپریدون (۱ میلی‌گرم/کیلوگرم) با بزرگ‌نمایی X ۴۰ (سمت راست) و بزرگ‌نمایی X۴۰۰ (سمت چپ)



شکل ۴- نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه ریسپریدون (۲ میلی‌گرم/کیلوگرم) با بزرگ‌نمایی ۴۰ X (سمت راست) و بزرگ‌نمایی ۴۰۰ X (سمت چپ)



شکل ۵- نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه ریسپریدون (۴ میلی‌گرم/کیلوگرم) با بزرگ‌نمایی ۴۰ X (سمت راست) و بزرگ‌نمایی ۴۰۰ X (سمت چپ)

بحث

ریسپریدون یک داروی ضد روان‌پریشی و آنتی-سایکوتیک نسل دوم است که برای کاهش علائم شناختی اسکیزوفرنی گزارش شده (۱۸) و در گروه داروهای ضد جنون و اعصاب و روان و یکی از داروهای انتخابی برای درمان اوتیسم می‌باشد (۲۷). اختلال در انتقال عصبی یکی از دلایل مهم اختلالات حافظه است و اعتقاد بر این است که ریسپریدون با تنظیم انتقال دوپامینرژیک و سروتونرژیک و تعادل بین آنها از حافظه مراقبت نموده و اثر محافظتی ریسپریدون بر حافظه نشان دهنده اثر آن بر عملکرد صحیح مغز است (۱۸). مطالعه حاضر به بررسی اثر

مصرف مکرر بعضی از مواد سبب تغییراتی در سیستم عصبی مرکزی می‌شود که نهایتاً منجر به وابستگی روانی می‌شود. آزمایش‌های انسانی و حیوانی نشان داده‌اند آمیگدال، قشر پیش پیشانی، هسته آکومبنس و به خصوص نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتال شکمی در پیدایش این وابستگی دخیل هستند. هر چند نقش دوپامین در ایجاد وابستگی به مواد اثبات شده است ولی نباید نقش نوروترنسمیترهای دیگری همچون سروتونین، استیل کولین، گابا و گلوتامات که در وابستگی به مواد دخیل هستند، نادیده گرفته شود (۸).

شناخته شده‌اند که در القاء وابستگی روانی به آنها نسبت داده می‌شود، نواحی مختلفی از مغز مانند تگمنتوم شکمی، هسته آکومبوس و هیپوکامپ در القاء این پدیده دخالت دارند (۱).

این سیستم در نواحی تگمنتوم قدامی که از اساسی-ترین مکان‌های آغازین بر ای اثرات پاداشی ناشی از داروهاست (۲۴)، که در واقع نورون‌های دوپامینی محسوب می‌شوند، شروع شده و به هسته آکومبوس، قشر جلو پیشانی و نواحی درگیر در حافظه مانند هیپوکامپ و آمیگدال ختم می‌شود (۲۵).

در مطالعاتی مشخص شده است که درمان حاد ریسپریدون باعث کاهش قابل توجه سطح GABA خارج سلولی در گلوبوس پالیدوس موش صحرایی می‌شود (۷). با کاهش فعالیت گیرنده‌های گابا آرژیک، سبب افزایش اشتیاق به مصرف شده که این مکانیسم باعث می‌شود هنگامی که حیوان در محیطی قرار می‌گیرد که قبلاً دارویی دریافت کرده، فعال شده و حیوان به جستجوی دارو روی می‌آورد (۱) که بدین ترتیب با کاهش سطح گابا، مهار از روی نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی برداشته شده و سبب افزایش آزاد سازی دوپامین در هسته آکومبوس می‌گردد (۳۱) که ممکن است منجر به القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط دوزهای بالاتر ریسپریدون باشد. از سویی دیگر در مکانیسم ترجیح مکان شرطی شده یادگیری نیز دخیل می‌باشد زیرا حیوان باید بین پاداش و محل مربوطه ارتباط برقرار کند.

سایر مطالعات نیز نشان داده شده است که در بین گیرنده‌های مختلف دوپامینی، گیرنده‌های D₂ به طور مستقیم و قدرتمندی سبب افزایش غلظت دوپامین خارج سلولی شده و دارای نقش مهم در کسب و بیان ترجیح مکان شرطی می‌باشد (۲۸).

ریسپریدون بر ترجیح مکان شرطی و بافت هیپوکامپ پرداخته است.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که دوزهای ۲ و ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم باعث افزایش ترجیح مکان شرطی و یادگیری می‌شود. همچنین نتایج نشان می‌دهد که تزریق داخل صفاقی ریسپریدون در دوزهای پایتتر وابستگی روانی ایجاد نمی‌کند (نمودار ۱).

ریسپریدون با تغییر در میزان مواد شیمیایی مغز (نوروترانسمیترها) بر سیستم عصبی تاثیر می‌گذارد. کالر و همکارانش، در تحقیقات خود نتیجه گیری نمودند که ریسپریدون آتاگونست D₂ و HT_{2A} ۵ بوده و داروی موثر بر روانپزشی می‌باشد (۱۹).

همچنین مشخص شده است که تراکم گیرنده‌های دوپامین مغز پیشین، در موش‌هایی که در اوایل زندگی با ریسپریدون تجویز شده بودند در هسته قدامی داخلی، خلفی و شکمی کاهش می‌یابد (۳).

ریسپریدون مهارت‌های شناختی مانند توجه و روانی کلامی را به طور قابل توجهی بهبود می‌بخشد. در یک مطالعه پیش بالینی نیز نشان داده شده که تجویز داخل صفاقی مستمر ریسپریدون (۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۱۴ روز، نارسایی‌های یادگیری فضایی، حافظه در موش‌ها را بهبود بخشید (۳۵).

ترجیح مکانی شرطی شده یک برنامه مبتنی بر رفتار است که از آن برای اندازه‌گیری قدرت اعتیادآور داروها و همچنین میزان حافظه و یادگیری وابسته به محرک‌های پاداش دهنده، استفاده می‌شود (۳۲).

مشخص شده است که در انسان خوردن غذا و مایعات شیرین، تحریک الکتریکی مغز و برخی از داروها می‌توانند CPP را القاء کنند (۲۰).

ترجیح مکان شرطی شده یک پدیده بسیار پیچیده بوده (۱) و مسیرهای آناتومیکی و نوروترانسمیترهایی (۲۵) مانند گابا آرژیک، گلوتاماترژیک، سروتونرژیک، آدرنرژیک و پپتیدهای اپیوئیدی آندوژن نیز در مغز

فارماکولوژی سروتونرژیک را نشان می‌دهند. اثرات ضد روان پریشی غیرمعمول بر روی سیستم سروتونین مغز متفاوت است، اما غلظت سروتونین خارج سلولی افزایش می‌یابد در حالی که بیان گیرنده ۵-HT_{2A} کاهش می‌یابد. علاوه بر این، آنتی‌سایکوتیک‌های غیر معمول اثرات مثبتی بر حافظه در مدل‌های حیوانی اختلال عملکرد شناختی نشان می‌دهند. با این حال، آنتی‌سایکوتیک‌های معمولی که در درجه اول گیرنده‌های دوپامین مغز را مسدود می‌کنند، ممکن است اثرات غیرمستقیم بر روی سیستم سروتونین شان دهند، زیرا میزان قابل توجهی تعامل بین سیستم‌های انتقال دهنده عصبی دوپامینرژیک و سروتونرژیک وجود دارد (۱۵).

در مطالعاتی نشان داده شده است که ریسپریدون آنتی‌سایکوتیک آتپیک، نقص حافظه شناختی ناشی از انزوای اجتماعی پس از شیر گرفتن را در موش‌ها معکوس می‌کند (۲۳).

علاوه بر دوپامین و سروتونین نوروترانسمیترهای مختلفی در هیپوکامپ موجود می‌باشند. استیل‌کولین یکی از مهمترین نوروترانسمیترهای آزاد شده از هیپوکامپ است که توسط جسم سلولی کولینرژیک در ناحیه آزاد می‌گردد (۹). گیرنده‌های D₂ هیپوکامپ شکمی در عملکرد حافظه دخیل هستند، ممکن است این عملکرد، با تنظیم رهاسازی استیل کولین انجام شود (۲۹).

مطالعات انجام شده بر روی حیوانات نشان می‌دهد که با وجود ارتباط وسیع و یکپارچه سیستم کولینرژیک و سروتونرژیک گهگاهی دارای عملکرد آنتاگونیستی نیز می‌باشند. اختلال در حافظه کاری می‌تواند به دلیل بلوکه شدن سیستم کولینرژیک باشد که از طریق تقویت نوروترانسمیتر سروتونین بهبود می‌یابد (۲۲).

در تحقیقاتی مشخص شده است که افزایش دوز ریسپریدون (۳ میلی‌گرم/کیلوگرم) باعث افزایش

بطوری که انسداد گیرنده‌های D₁ و D₂ در نوروها به طور قابل توجهی کسب CPP را کاهش می‌دهد (۱۷).

چندین تحقیق نیز بیان می‌کنند که گیرنده‌های D₂ دوپامین در اعمال شناختی نقش دارند (۱۰). همچنین در مطالعاتی بیان شده است که کاهش میزان دوپامین تغییر در عملکردهای شناختی را در پی دارد (۲۱). آسیب حافظه کاری نیز بعد از مصرف آنتاگونیست-های D₂ مشاهده شده است. همچنین مشخص شده است که ریسپریدون آنتاگونیست قوی سروتونین (۵HT_{2A}) و D₂ دوپامین می‌باشد و دوز کم ریسپریدون، علائم منفی اسکیزوفرنی را با حداقل بروز عوارض خارج هرمی، کاهش می‌دهد (۵).

این احتمال ممکن است که دوز ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم ریسپریدون با کاهش میزان دوپامین ترجیح مکانی را مهار کرده و مانع وابستگی شود. در نتایج مطالعه حاضر، در دوز ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم ریسپریدون کاهش ترجیح مکانی مشاهده می‌شود که می‌تواند به علت متفاوت بودن رت‌ها نسبت به هم نیز باشد همچنین احتمال دارد این کاهش دوز باعث تغییر رفتار دارو روی گیرنده‌های دوپامینی و سروتونینی شده باشد. همچنین مشخص شده است که ریسپریدون ممکن است در درمان اختلالات شناختی مرتبط با اسکیزوفرنی موثر باشد (۳۴). با این حال لایف و همکارانش بیان کردند که ریسپریدون باعث کاهش یادگیری فضایی می‌شود (۴).

مطالعات دیگر در مورد کاهش طولانی مدت عملکرد سروتونین مانند تزریق آنتاگونیست‌های سروتونرژیک و ضایعه هسته رافه پشتی، نقص حافظه اشیاء را ایجاد می‌کند (۱۶).

داروهای ضد روان پریشی آتپیک در مقایسه با آنتی-سایکوتیک‌های معمولی که عمدتاً به دوپامین اختصاصی هستند، هم دوپامینرژیک، عمدتاً D₂، و هم

می‌باشد. علاوه بر این، عدم تعادل التهابی مغز و استرس اکسیداتیو/نیتروزاتیو نشان داده شده در PFC حیوانات آسیب دیده، و ارتباط مدولاسیون ریسپریدون در این حیوانات، با نشانگرهای محیطی، باعث عملکرد بهتر این مدل حیوانی برای کشف ارتباط بین نشانه‌های رشد عصبی و ایمنی می‌شود (۳۳).

بر اساس مطالعات قبلی و همینطور پژوهش حاضر در ترجیح مکانی و مطالعات بافتی، این امکان وجود دارد که ریسپریدون با اثر حفاظتی خود و تغییر میزان نوروترانسمیترها، باعث کاهش مرگ سلول عصبی در ناحیه CA1 هیپوکامپ می‌گردد و ریسپریدون با دوز ۲ و ۴ mg/kg باعث افزایش اثر ترجیح مکانی و در نتیجه افزایش یادگیری در موش صحرائی نر می‌شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به پیچیده بودن نورویولوژی در ناحیه هیپوکامپ، و مکانیسم‌های نورونی درگیر در پدیده ترجیح مکانی و اطلاعات اندکی که در رابطه با حساسیت به ریسپریدون در سطح ملکولی در دسترس است اعلام نظر قطعی در مورد چگونگی رخدادهای واقع شده بسیار دشوار است و به تحقیقات حساب شده و بیشماری در این زمینه نیازمند است ولی گرچه مکانیسم دقیق ریسپریدون ناشناخته است اما این احتمال وجود دارد که ریسپریدون با تغییر میزان نوروترانسمیترهایی مانند سروتونین و استیل کولین در نواحی مختلف مغزی مانند تگمتموم شکمی و هسته آکومبسنس و هیپوکامپ که در ایجاد وابستگی روانی دخیل هستند این سطح از بررسی‌ها میتواند دیدگاهی جامع از تاثیرات ژنتیکی، اهداف بیولوژیکی داروها و آن دسته از مسیرهای انتقال پیام که منجر به راه اندازی فرایندهای انطباق نورونی می‌شوند، فراهم آورد

تشکر و قدردانی

گیرنده‌های (5HT1A) در قشر داخلی پیشانی و پشتی-جلویی و هیپوکامپ می‌شود و با افزایش دوز ریسپریدون، گیرنده‌های سروتونین نیز در هیپوکامپ زیاد شده (۷) و با توجه به اینکه سروتونین از جمله محرک‌های قوی آزادسازی دوپامین است (۱۱) ممکن است باعث افزایش دوپامین در دوزهای بالاتر ریسپریدون شده باشد و باعث ایجاد یادگیری و ترجیح مکان شرطی و وابستگی شود. نتایج مطالعات بافتی پژوهش حاضر روی گروه‌های تیمار با دوزهای ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم ریسپریدون نیز نشان داد که ریسپریدون روی نورون‌ها اثرات تخریبی نداشته و تا حدی توانسته است از تخریب نورون‌ها و آپوپتوز آنها جلوگیری کند (شکل ۲).

ریسپریدون برای کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از طریق تنظیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مغز فرض شده است. بنابراین نشان می‌دهد که ریسپریدون، استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهند (۱۶).

پروتکل‌های آزمایشگاهی نشان داده‌اند که درمان با ریسپریدون باعث افزایش سطح سایتوکین‌های ضد التهابی و کاهش سایتوکین‌های پیش التهابی می‌شود. همچنین شواهدی وجود دارد که ریسپریدون پاسخ التهابی را نیز تعدیل کرده و استرس اکسیداتیو/نیتروزاتیو را کاهش داده است (۳۳).

جالب توجه است که ریسپریدون سطح COX-2 (یک واسطه التهابی قوی است که میکروگلیا را فعال می‌کند) را در حیوانات آسیب دیده افزایش می‌دهد، این می‌تواند به توانایی ریسپریدون برای افزایش سنتز اسیدهای چرب امگا ۳ غشایی در گلوبول‌های قرمز و پری فرونتال کورتکس مغز (PFC) همچنین مشخص شده است که ریسپریدون با بازگرداندن پلاستیسیته و کاهش استرس اکسیداتیو/نیتروزاتیو باعث بهبود عملکرد PFC می‌شود در نتیجه رفتار حیوانات بهبود

risperidone exposure on serotonin receptor subtypes in developing rats. *European Neuropsychopharmacology*, 20:187-194.

8. Elahi-Mahani A., Heysieattalab S., Hosseinmardi N., Janahmadi M., Seyedaghamiri F., Khoshbouei H. 2018. Glial cells modulate hippocampal synaptic plasticity in morphine dependent rats. *Brain Research Bulletin*, 97:106-140.

9. Favaroni Mendes L.A., Menescal-de-Oliveira L. 2008. Role of cholinergic opiodergic and GABAergic neurotransmission of the dorsal hippocampus in the modulation of nociception in guinea pigs. *Life Science*, 83: 644-650.

10. Floresco S.B., Magyar O., Ghods-Sharifi S., 2006. Multiple Dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the Rat regulate set-shifting. *Neuropsychopharmacology*, 31:297-309.

11. Hadizadeh Assar S., Hosseini Sharifabad M., Yadegari M. 2019. Effects of methamphetamine toxicity on the nervous system. *ShafayeKhatam*, 6(3):91-99.

12. Horacek J., Bubenikova-Valesova V., Kopecek M., Palenicek T., Dockery C., Mohr P., Höschl C. Bubenikova-Valesova V., Kopecek M, Palenicek T., Dockery C., Mohr P., Höschl C. 2006. Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia. *CNS Drugs*, 20(5):389-409.

13. Hyman S.E., Malenka R.C. 2001. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence *Nature Reviews, Neuroscience*, 2(10):695-703.

14. Jafari F., Hemmati S, Fadai F, Dolatshahi B. 2016. Comparing the effects of risperidone and haloperidol on the general symptoms of schizophrenia. *Rehabilitation Archive (Rehabilitation)*, 8(29):9-13.

15. Jenkins T.A., Elliott J.J., Ardis T.C., Cahir M., Reynolds G.P., Bell R., Cooper

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان که با این پروژه همراهی و مساعدت نمودند کمال تشکر به عمل می‌آید.

منابع

1. Abbasi Maleki S, Nouri M, Eskandary H, Abbasi Maleki N, Cheraghyan S. 2011. The effect of peripheral and intracerebroventricular injection of vitamin B6 on the positive reinforcing effect of morphine in the conditioned place preference (CPP) model in male rats. *Journal of Tabriz University of Medical Sciences*, 33(5):85-90.

2. Ahmadian S.M., Alaei H., Ghahremani P. 2019. An Assessment between D1 receptor agonist and D2 receptor antagonist into the ventral tegmental area on conditioned place preference and locomotor activity. *Advanced Biomedical Research*, 8:72.

3. Bardgett M.E., Downnen T., Crane C., Baltés Thompson E.C., Muncie B., Steffen S.A., Yates J.R., Pauly J.R. 2020. Chronic risperidone administration leads to greater amphetamine-induced conditioned place preference. *Neuropharmacology*, 179:108276.

4. Boman L, De Butte M. 2019. Neurobehavioral effects of chronic low-dose risperidone administration in juvenile male rats. *Behavioural Brain Research*, 363:155-160.

5. Brunton L.L., Chabner B., Knollman B. 2014. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 12th Edition, McGraw-Hill Education, 2109 p.

6. Chen S., Lian J., Su Y., Deng C. 2022. Effects of Risperidone and Prenatal Poly I:C Exposure on GABA_A Receptors and AKT-GSK3 β Pathway in the Ventral Tegmental Area of Female Juvenile Rats. *Biomolecules*, 12(5):732.

7. Choi Y.K., Moran-Gates T., Gardner M.P., Tarazi F.I. 2010. Effects of repeated

- Rochelle C., Jaffard R., Morain P. 2008. Comparative effects of the dopaminergic agonists piribedil and bromocriptine in three different memory paradigms in rodents. *Journal of Psychopharmacology*, 22(5):511-521.
23. McIntosh A.L., Ballard T.M., Steward L.J., Moran P.M., Fone K.C. 2013. The atypical antipsychotic risperidone reverses the recognition memory deficits induced by post-weaning social isolation in rats. *Psychopharmacology*, 228(1):31-42.
24. Moaddab M., Haghparast A., Hassanpour-Ezatti M. 2009. Effects of reversible inactivation of the ventral tegmental area on the acquisition and expression of morphine-induced conditioned place preference in the rat. *Behavioral Brain Research*, 198(2):466-471.
25. Mobasher M., Sahraei H., Sadeghi-Rad B., Kamalinejad M., Shams J. 2006. The effects of *Crocus sativus* extract on the acquisition and expression of morphine-induced conditioned place preference in mice. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 5(3):143-150.
26. Mojabi N.S., Eidi A., Kamalinejad M., Khamseh F., Khoshbaten A., Noroozadeh A., Zighymat F., Sahraei H. 2008. The effects of intra-nucleus accumbens shell injections of alcoholic extract of *Crocus sativus* on the acquisition and expression of morphine-induced conditioned place preference in rats. *Physiology and Pharmacology*, 12(2):121-128.
27. Pandina G.J., Bossie C.A., Youssef E., Zhu Y., Dunbar F. 2007. Risperidone Improves Behavioral Symptoms in Children with Autism in a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 37(2):367-373.
28. Rouge-Pont F., Usiello A., Benoit-Marand M., Gonon F., Piazza P.V., Borrelli E. 2002. Changes in extracellular dopamine induced by morphine and cocaine: crucial S.J. 2010. Cooper Tryptophan depletion impairs object-recognition memory in the rat: Reversal by risperidone. *Behavioural Brain Research*, 208(2):479-483
16. Kajero J., Seedat S., Ohaeri J., Akindele A., Aina O. 2022. The effects of cannabidiol on behavioural and oxidative stress parameters induced by prolonged haloperidol administration. *Acta Neuropsychiatrica*, 2022:1-11.
17. Katebi N., Haghparast A., 2018. Involvement of D1- and D2-like dopamine receptors in the dentate gyrus in the acquisition, expression, and extinction of the morphine-induced conditioned place preference in rats. *Behavioural Brain Research*, 353(2018):185-193.
18. Keller İ. Eriman, H. Erdinc, M. Uyar E. 2022. Risperidone and ethyl pyruvate have protective effects against ketamine-induced cognitive impairments in mice. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 26:1708-1716.
19. Koller E.A., Cross J.T., Doraiswamy P.M., Malozowski S.N. 2003. Pancreatitis associated with atypical antipsychotics: from the food and drug administration's MedWatch surveillance system and published reports. *Pharmacotherapy*, 23(9):1123-1130.
20. Liang J., Ping X.J., Li Y.J., Ma Y.Y., Wu L.Z., Han J.S. 2010. Morphine-induced conditioned place preference in rats is inhibited by electroacupuncture at 2 Hz: role of enkephalin in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology*, 58(1):233-240.
21. Line K., Massucci J.L., Marion D.W., Dixon C.E. 2002. Attenuation of working memory and spatial acquisition deficits after a delayed and chronic bromocriptine treatment regime in rats subjected of traumatic brain injury by controlled cortical impact. *Journal of Neurotrauma*, 19(4):415-425.
22. Marighetto A., Valerio S., Philippin J.N., Bertaina-Anglade V., Drieu la

33. Tendilla-Beltrán H., Meneses-Prado S., Vázquez-Roque R.A., Tapia-Rodríguez M., Vázquez-Hernández A.J., Coatl-Cuaya H., Martín-Hernández D., MacDowell K.S., Garcés-Ramírez L., Leza J.C., Flores G., 2019. Risperidone ameliorates prefrontal cortex neural atrophy and oxidative/nitrosative stress in brain and peripheral blood of rats with neonatal ventral h lesion. *Journal of Neuroscience*, 39(43):8584-8599.
34. Varadinova M., Bogdanov G., Markova P. 2019. Effects of risperidone on Learning and memory arameters in experimental model of autism. *Trakia Journal of Sciences*, 3:203-207.
35. Yu W., Zhu M., Fang H., Zhou J., Ye L., Bian W., Wang Y., Zhu H., Xiao J., Zhu H. Li H. 2019. Risperidone Reverses the Downregulation of BDNF in Hippocampal Neurons and MK801-Induced Cognitive Impairment in Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13:163.
36. Zarrindast M.R., Faraji N., Rostami P., Sahraei H., Ghoshouni H. 2003. Cross-tolerance between morphine- and nicotine-induced conditioned place preference in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 74:363-369.
- control by D2 receptors. *Journal of Neuroscience*, 22(8):3293-3301.
29. Samuels E.R, Szabadi E. 2008. Functional neuroanatomy of the noradrenergic locus coeruleus: Its roles in the regulation of arousal and autonomic function part II: physiological and pharmacological manipulations and pathological alterations of locus coeruleus activity in humans. *Current Neuropharmacology*, 6(3):254-285.
30. Taghavi Rafsanjani A., Haeri Rohani S.A., Pourshanazari A., Shamsizadeh A., Allahtavakoli M. 2013. Effect of nicotine administration on physical and psychological signs of withdrawal syndrome induced by single or repeated doses of morphine in rat. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*, 20(3):347-358.
31. Tale F., Ghaderi Pakdel F., Shahabi P., Naderi S. 2016. Burst firing of the ventral Tegmental area neurons through bicuculline-induced GABA-A receptor blockade. *ShafayeKhatam*, 4(2):33-46.
32. Tavakoli F., Hoseini S., Mokhtari M., Vahdati A. 2014. Effect of memory attenuation and light music on morphine dependency in male mature mice using conditioned place preference. *Feyz*, 18(1):1-8. [in Persian]

The Effect of Risperidone on the Induction of Psychological Dependence and the Number of Hippocampal Neurons in Adult Male Rats

**Zahra Mansouri Arani¹, Nasrin Heydariyeh^{1*}, Hamid Reza Banafshe²,
Gholamreza Ghavipanjeh², Majid Lotfinia³**

1. Department of Biology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran

2- Department of Pharmacology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

3- Department of Biotechnology, Physiology Research Center Basic Sciences Research Institute, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Abstract

Psychological dependence on substances is the desire to consume substances or something that has pleasurable effects and produces satisfaction. Various substances cause this dependence. Previous studies indicate the possible effect of risperidone on the brain reward system and the involvement of different receptors in conditioned place preference (CPP). Therefore, the present study was designed with the aim of investigating the effect of risperidone on the induction of psychological dependence and the number of hippocampal neurons. For this study, 40 male Wistar rats with a weight range of 230-280 grams were used. Risperidone was injected intraperitoneally with doses of 1, 2 and 4 mg/kg. At the end of the hippocampus experiments, the animals were taken out and fixed by formalin, then cut and after staining, they were used for histological evaluation and neuronal counting. The results of this study showed that the administration of risperidone with a dose of 2 and 4 mg/kg causes a significant increase in CPP ($p < 0.05$). Also, in histological evaluation, no neuronal destruction was observed in all risperidone groups (1, 2 and 4 mg/kg). According to the obtained results, it can be concluded that risperidone in higher doses causes an increase in conditioned place preference and learning and dependence and should be considered in treatment.

Keywords: Risperidone; Psychological Dependence, Neuron, Hippocampus.