

Effects of Short-term and Long-term Administration of Ritalin on Anxiety and Locomotor Activity: a research based on animal modeling

Golbaghi, N., Naeimi, *S., Mahdavi, A.

Abstract

Introduction: The aim of this study was to investigate the effects of acute and chronic administration of Ritalin on some behavioral parameters such as anxiety and locomotor activity and its comparison between male and female rats.

Method: The present study is an experimental interventional study performed on 40 adult rats. Rats were divided into 8 groups (5 Rats per group); including two control groups and six treatment groups. Control groups were given saline and treatment groups were given therapeutic doses or high doses Ritalin per day for 30 days by gavage. The effects of the drug on anxiety and locomotor activity were monitored by Elevated Plus Maze and Open Field respectively. Data were analyzed by one-way ANOVA and Duncan's test using SPSS software.

Results: In the chronic test, the number of line crossing significantly was increased in the both genders of 10 mg/kg. Meanwhile, the data showed no significant change in the rate of anxiety subsequent to the acute or chronic Ritalin administration. It is worth mentioning that female rats in high dose showed less anxiety comparison to male counterparts.

Conclusion: This study revealed that long-term use of high dose of Ritalin may lead to increasing locomotor activity and then behavioral sensitization in both sexes. Furthermore, Ritalin has no impact on anxiety rate in therapeutic doses.

Keywords: Anxiety, Ritalin, Locomotor activity.

اثرات کوتاه مدت و دراز مدت ریتالین بر اضطراب و فعالیت حرکتی: پژوهشی مبتنی بر مدل سازی حیوانی

نوید گل‌باغی^۱، سعیده نعیمی^۲، علی مهدوی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۲

چکیده

مقدمه: هدف این مطالعه بررسی اثرات حاد و مزمن ریتالین بر روی برخی از پارامترهای رفتاری شامل اضطراب و فعالیت حرکتی و مقایسه آن بین موش صحرایی جنس نر و ماده بود.

روش: پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی از نوع مداخله‌ای بوده که بر روی ۴۰ قطعه موش صحرایی انجام شده است. حیوانات بطور تصادفی به ۸ گروه ۵ تایی شامل دو گروه کنترل و شش گروه درمانی تقسیم شدند. به گروه‌های کنترل نرمال سالین، به گروه‌های تجربی دوزهای درمانی و یا دوز بالا یکبار در روز ریتالین و برای ۳۰ روز به روش گاواژ تجویز شد. اثر دارو بر اضطراب با استفاده از دستگاه ماز بعلاوه مرتفع و بر فعالیت حرکتی از طریق دستگاه فضای باز بررسی شد. در نهایت بر روی داده‌ها آزمون واریانس یک‌طرفه انجام شد و برای مقایسه‌ی میانگین‌ها آزمون دانن‌ای دانکن توسط نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: در تجویز مزمن ریتالین، دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب افزایش معنی‌دار در تعداد عبور از خطوط در هر دو جنس نر و ماده شد. همچنین ریتالین در هیچ دوزی چه در کوتاه مدت و چه در درازمدت تغییر معنی‌داری در میزان اضطراب نرها و ماده‌ها ایجاد نکرد؛ فقط در دوز زیاد، حیوانات ماده‌ها نسبت به حیوانات نر اضطراب کمتری در پاسخ به تجویز حاد ریتالین نشان دادند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مصرف دراز مدت دوز بالای ریتالین می‌تواند موجب افزایش فعالیت حرکتی و ایجاد حساسیت رفتاری شود. همچنین ریتالین در دوزهای درمانی اثر مشخصی بر میزان اضطراب ندارد.

واژه‌های کلیدی: اضطراب، ریتالین، فعالیت حرکتی.

۱. دانشجوی دکتری دام‌پزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۲. نویسنده مسئول: استادیار، عضو هیئت علمی گروه فارماکولوژی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۳. استادیار، عضو هیئت علمی گروه تغذیه، پرورش و اصلاح نژاد دام، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

مقدمه

درد، اختلالات شناختی^۴ و ایدز نیز کاربرد دارد(۸). همچنین در افراد دارای اعتیاد به کوکائین کاربرد درمانی دارد(۹). ریتالین آزادسازی دوپامین ذخیره شده از وزیکول‌های پیش سیناپسی را افزایش می‌دهد و ناقل^۵هایی را که مسئول بازبرداشت دوپامین از فضای سیناپسی هستند، مهار می‌کند؛ در نتیجه دوپامین خارج سلولی افزایش می‌یابد. مکانیسم آفتماین کمی متفاوت است؛ به این صورت که آفتماین علاوه بر مهار بازبرداشت دوپامین، به صورت انتخابی تر باعث آزادسازی دوپامین جدید ساخته شده می‌گردد(۱۰). افزایش دوپامین می‌تواند سیستم مهاری - حرکتی را در محور اوربیت - فرونتال - لیمبیک فعال کند؛ در نتیجه مهار ایمپالس‌ها افزایش می‌یابد و بنابراین کمک می‌کند تا کودکان مبتلا به ADHD روی موارد ضروری تمرکز کنند(۸).

دوپامین یک نقش میانجی در راه‌های متعدد و ضروری مغز بازی می‌کند؛ برای نمونه مطالعات در پرمات‌ها نشان می‌دهد که غلظت دوپامین در قشر پیشانی و هسته‌های قاعده ای بیشترین است. هسته‌های قاعده‌ای، ساختارهای تحت قشری هستند که شامل هسته کوآدیت^۶، گلوبوس پالیدوس^۷، پوتامن^۸ و هسته اکامبنس^۹ می‌باشد. مدارهای مغزی متصل بین قشر پیشانی و هسته‌های قاعده‌ای، نقش مهمی در توجه، سازماندهی و برنامه‌ریزی، انگیزه و پاداش و بخصوص کنترل حرکتی^{۱۰} ایفا می‌کند. این عملکردهای مغزی بطور واضح با ADHD در ارتباط است. مطالعات اخیر تصویربرداری عصبی نیز نشان می‌دهد که مسیرهای قشری - تحت قشری که به وسیله دوپامین میانجی شده اند، مستقیماً تحت تأثیر محرک‌ها قرار می‌گیرند(۱۰).

اثرات درازمدت استفاده از آن نیز عبارت از صدمه به عروق خونی قلب و مغز، صدمه به کبد، کلیه و ریه، مشکلاتی در بافت بینی و حس بویایی (به ویژه اگر استنشاقی مصرف شود)، مشکلات تنفسی، بیماری‌های عفونی و آبسه در موارد استفاده‌ی تزریقی کاهش وزن و بی‌اشتهایی، گیجی،

اختلال بیش‌فعالی توام با کمبود توجه یکی از اختلالات دوران کودکی با الگوی ثابت بی‌توجهی و بیش‌فعالی است که در حدود ۳ تا ۷ درصد کودکان مدارس ابتدایی در مرحله پیش از بلوغ از آن رنج می‌برند. علت این اختلال معلوم نیست، هر چند که در اکثر این کودکان، عواملی چون مواجهه با سموم در دوره قبل از تولد، زودرسی، و صدمه مکانیکی قبل از تولد به سلسله اعصاب جنین و نیز عوامل ژنتیکی در سبب‌شناسی این اختلال شایع است. یکی از داروهای مورد استفاده برای کنترل این اختلال ریتالین می‌باشد. حساسیت رفتاری^۱ در علم روانشناسی، یک پروسه‌ی یادگیری غیر تداعی است که جاندار بعد از چند بار مواجهه با محرک، همچنان واکنش زیاد و شدیدی به آن نشان می‌دهد. این نوع از یادگیری به عنوان یک مدل آزمایشی به مطالعه خطرات اختلالات رفتاری مختلف مثل شیذوفرنی، پارانوئید و اختلالات دوقطبی کمک می‌کند(۱). حساسیت رفتاری از عواقب تغییرات تکامل عصبی القا شده‌ی درگیر در مدار ارتباطات دوپامینرژیک و گلوتاماترژیک بین ناحیه تگمنتال شکمی، هسته‌های اکامبنس، قشر پیش‌پیشانی و آمیگدال است(۲). اما تحمل به دنبال جبران رفتاری برای اثرات ابتدایی یک دارو ایجاد می‌شود(۳). در مطالعات رفتاری، افزایش یا کاهش فعالیت حرکتی به دنبال تجویز مکرر یک محرک، به ترتیب شاخصی از حساسیت یا تحمل رفتاری است(۴).

متیل‌فنیدات هیدروکلراید با نام تجاری ریتالین، دارای فرمول شیمیایی $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{NO}$ بوده و شباهت بسیاری به یک نوع ایزومر از آفتماین به نام دکستروآفتماین سولفات^۲ دارد(۵). ریتالین یک داروی دوپامینرژیک و نورآدرنرژیک است که برای درمان اختلال بیش‌فعالی - کمبود توجه^۳ (ADHD) در کودکان و بزرگسالان به‌عنوان داروی خط اول درمانی استفاده می‌شود(۶). دوز درمانی ریتالین برای اختلال مذکور، به‌صورت روزانه بین ۱۰ تا ۶۰ میلی‌گرم بر اساس سن و واکنش بیمار متفاوت می‌باشد(۷). این دارو در کنترل اختلالات دیگری نظیر افسردگی، نارکولپسی، آسیب مغزی،

4. cognitive disorders
5. transporter
6. Caudate Nucleus
7. Globus Pallidus
8. Putamen
9. Accumbens Nucleus
10. Motor Control

1. behavioral sensitization
2. Dextroamphetamine Sulfate
3. Attention Deficit/Hyperactive Disorder (ADHD)

روش

طرح پژوهش: پژوهش حاضر، یک مطالعه تجربی مداخله‌ای می‌باشد.

آزمودنی‌ها: جامعه آماری این پژوهش بر روی ۴۰ قطعه موش صحرایی بالغ (۲۰ قطعه نر و ۲۰ قطعه ماده) از نژاد ویستار انجام شده است. حیوانات آزمایشگاهی از مرکز تحقیقات حیوانات آزمایشگاهی آموزش‌دهنده دامپزشکی شه‌میرزاد خریداری شدند و در قفس‌های مجزا بر حسب جنسیت و گروه درمانی قرار گرفتند؛ در تمام مدت مطالعه، ۱۲ ساعت خاموشی و ۱۲ ساعت روشنایی رعایت شد و همچنین آب و غذای کافی در اختیار حیوانات قرار داده شد. دمای اتاق همواره 22 ± 1 سانتی‌گراد بود. در ابتدا حیوانات روند سازش‌پذیری را به مدت یک هفته طی کردند. در تمامی مراحل کار، اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با اصول کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیستی دانشکده دامپزشکی رعایت شده و دارای کد اخلاق به شماره ۶۵-۹۷-۳-۲۱-۳ است.

پس از طی دوره سازش‌پذیری، بطور تصادفی به هشت گروه برابر (پنج تایی) تقسیم شدند. هشت گروه مذکور، به ترتیب شماره‌ی گروه عبارتند از: گروه نر کنترل، گروه‌های درمانی یک، دو، سه، گروه ماده کنترل، گروه‌های درمانی چهار، پنج، شش و هفت.

ابزار

۱. آزمون فضای باز (Open Field: OF): یک جعبه چوبی مربع‌شکل با طول و عرض ۶۰ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر و کف چوبی جاذب آب برای انجام این آزمون به کار رفت. کف جعبه به ۱۶ قسمت مساوی تقسیم شده بود. هدف اصلی آزمون OF، بررسی فعالیت حرکتی^۱ است (۱۶). به منظور بررسی اثرات ناشی از تجویز حاد مقادیر مختلف ریتالین، ۳۰ تا ۴۰ دقیقه بعد از تجویز دارو، آزمون OF انجام شد؛ بدین منظور حیوان بطور آرام در گوشه جعبه قرار داده شد و تعداد عبور از خطوط^۲ را با دوربینی که بالای دستگاه تعبیه شده بود، مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس فیلم‌ها به‌طور دقیق مشاهده و مورد ارزیابی دستی قرار گرفتند. ملاک ارزیابی در شمارش، عبور کامل با هر چهار دست و پای حیوان بود. به

وابستگی روانی به دارو، سایکوزیس و افسردگی است. از بین موارد اشاره شده، بی‌خوابی، معده‌درد، سردرد و بی‌اشتهایی از مهمترین عوارض جانبی مصرف ریتالین است. سیمای بالینی سوء مصرف ریتالین در اکثر مواقع شبیه به سیمای بالینی کوکائین است (۸).

در ایران نیز طبق تحقیقی که در سال ۲۰۱۳ انجام شد، مشخص شد که حدود ۵/۴ درصد از دانشجویان علوم پزشکی دانشگاه کرمانشاه، حداقل یک بار در طول زندگی تجربه مصرف این دارو را داشته‌اند (۱۱).

اثرات کوتاه مدت ریتالین شامل افزایش ضربان قلب، پرفشاری خون، افزایش دمای بدن، گشادی مردمک‌ها، اختلال در الگوی خواب، توهم، تحریک‌پذیری و حساسیت، اثرات پانیک و سایکوزیس (روان‌پریشی)، تشنج و مرگ به دنبال استفاده از دوز بالا می‌باشد (۱۲).

در بحث تفاوت‌های جنسی در مطالعات رفتاری، پژوهش‌های متعددی نشان می‌دهد که هورمون‌های جنسی، رفتار و معیارهای شیمیایی را در استراتیوم و هسته‌های اکامبنس تنظیم می‌کند که در این مورد تفاوت‌هایی بین دو جنس وجود دارد (۱۳). برای مثال در یکی از این مطالعات تفاوت در اجرای ماز آبی بین جوندگان نر و ماده یافت شد که خبر از برتری عملکردی نرها در یادگیری فضایی را می‌داد یا در مطالعه‌ای دیگر موش‌های ماده در مقایسه با موش‌های ماده‌ای که تخمدان آنها برداشته شده بود، تضعیف عملکرد را در آزمون ماز آبی موریس نشان دادند (۱۴، ۱۵).

متیل‌فنیدات (ریتالین) - محرک دستگاه عصبی - داروی خط اول درمان اختلال نقص توجه - بیش‌فعالی (ADHD) و بسیاری از اختلال‌های دیگر است (۸). از طرفی به دلیل اینکه این دارو موجب افزایش تمرکز و شب‌بیداری می‌شود، پتانسیل سوء‌مصرف بالایی نیز دارد؛ که دانش‌آموزان و دانشجویان برای افزایش کارایی خود بخصوص در شب‌های امتحان از آن استفاده می‌کنند. در مجموع در این مطالعه، با توجه به مصرف گسترده ریتالین، فقدان مطالعات کافی در مورد تفاوت‌های جنسی متعاقب مصرف ریتالین و همچنین وجود تناقض بین مطالعات انجام شده، شناخت اثرات این دارو بر روی پارامترهای مختلف رفتاری و تفاوت‌های جنسی دنبال شد.

1. motor activity (basal motricity)

2. crossing number

ساعت پس از آخرین تجویز)، وزن حیوانات بوسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ اندازه‌گیری و یادداشت شد.

روند اجرای پژوهش: به منظور بررسی اثرات کوتاه‌مدت ریتالین، به گروه‌های کنترل یک سی‌سی نرمال سالین ۰/۹ درصد و به گروه‌های درمانی یک و چهار ۰/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به گروه‌های درمانی دو و پنج ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به گروه‌های درمانی سه و شش ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن‌شان ریتالین از طریق گاوژا تجویز شد و برای بررسی اثرات تجویز مزمن ریتالین، دریافت داروها به مدت ۳۰ روز ادامه یافت.

آنالیز آماری: داده‌های مربوط به وزن‌گیری، فضای باز (تست حاد، مزمن و ایندکس)، ماز بعلاوه مرتفع (درصد زمان سپری شده در بازوهای باز و درصد ورود به بازوهای باز در تست حاد و مزمن) و وزن‌گیری در صفحه گسترده‌ی اکسل سازمان‌دهی شدند و بر روی آن‌ها آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح آماری ۰/۰۵ در رویه‌ی مدل‌های خطی عمومی^۳ (GLM) انجام شد. در زمان معنی‌داری توزیع فیشر^۴ مقایسه‌ی میانگین‌ها به روش آزمون دانکن^۵ در سطح آماری ۰/۰۵ توسط نرم‌افزار آماری SPSS ورژن ۲۲ انجام شد. مدل آماری مورد استفاده: $Y_{ij} = M + X_{ij} + e$ که در آن Y_{ij} مشاهدات، M میانگین، X_{ij} اثر تیمار و e اثرات اشتباه آزمونی است. برای مقایسه میانگین‌ها بین تیمارهای آزمایشی در دو جنس نر و ماده از آزمون T-Student در سطح آماری ۰/۰۵ استفاده گردید.

یافته‌ها

نتایج آزمون OF به دنبال تجویز حاد ریتالین: از آنجایی که تعداد عبور تمام حیوانات از خطوط کف دستگاه در محدوده‌ی طبیعی بود، ثابت شد که حیوانات فاقد هرگونه نقص حرکتی هستند. در هیچ‌یک از جنسیت‌ها، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های درمانی با گروه‌های کنترل‌شان یافت نشد. همچنین بین دو جنس نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.

نتایج آزمون OF به دنبال تجویز مزمن ریتالین: میانگین تعداد عبور حیوانات از خطوط کف OF در تجویز مزمن ریتالین در هر دو جنس نر و ماده روندی وابسته به دوز و افزایشی داشت. در مورد گروه‌های دریافت‌کننده‌ی دوز ۱۰

منظور بررسی اثرات تجویز مزمن دارو، تست OF مجدداً پس از ۳۰ روز تجویز دارو انجام شد (۱۷). افزایش یا کاهش فعالیت حرکتی به دنبال تجویز مکرر یک محرک، به ترتیب شاخصی از حساسیت یا تحمل رفتاری است (۴).

۲. ماز بعلاوه‌ی مرتفع (maze plus Elevated): ماز بعلاوه مرتفع دستگاهی از جنس چوب و شامل دو بازوی باز و دو بازوی بسته است که با ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر از سطح فضای قرار گرفته است. این دستگاه میزان اضطراب را مورد سنجش قرار می‌دهد و با آن می‌توان داروهای ضد اضطراب^۱ و داروهای اضطراب‌زا^۲ را شناخت (۱۸). برای انجام تست EPM، حیوانات در مربع وسط دستگاه قرار داده شدند؛ بطوری که صورت‌شان به روی بازوهای باز باشد. سپس به حیوان پنج دقیقه فرصت داده شد تا به جستجوی آزادانه بپردازد و در این حین دوربین تعبیه شده در بالای ماز، رفتار موش را ثبت می‌کرد. لازم به ذکر است که بعد از اتمام هر تست، موش به قفس برگردانده شد و دستگاه با محلول اتانول تمیز شده و سپس خشک گردید. برای بررسی اثرات مزمن نیز ۲۴ ساعت بعد از آخرین تجویز، تست ماز بعلاوه انجام شد. سپس فیلم‌ها به‌طور دقیق مشاهده و پارامترهایی نظیر درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان سپری شده در بازوی باز، شمارش شدند و در نهایت طبق فرمول‌های زیر مورد بررسی قرار گرفتند.

$$\text{درصد ورود به بازوهای باز} = \frac{\text{تعداد ورود به بازوهای باز} \times 100}{\text{تعداد ورود به بازوهای باز} + \text{تعداد ورود به بازوهای بسته}}$$

$$\text{زمان سپری شده در بازوهای باز} \times 100 = \frac{\text{درصد زمان سپری شده در بازوهای باز}}{\text{زمان سپری شده در بازوهای باز} + \text{زمان سپری شده در بازوهای بسته}}$$

۳. وزن‌گیری با ترازوی دیجیتال: بر طبق گزارشات مختلف، ریتالین بر شاخصه‌ی وزن‌گیری در انسان (۱۹) و حیوان آزمایشگاهی (۲۰) تأثیر مهمی دارد. به همین منظور در ابتدا (چند ساعت قبل از اولین تجویز) و انتهای مطالعه (۲۴

3. General Learning Model

4. Fisher test

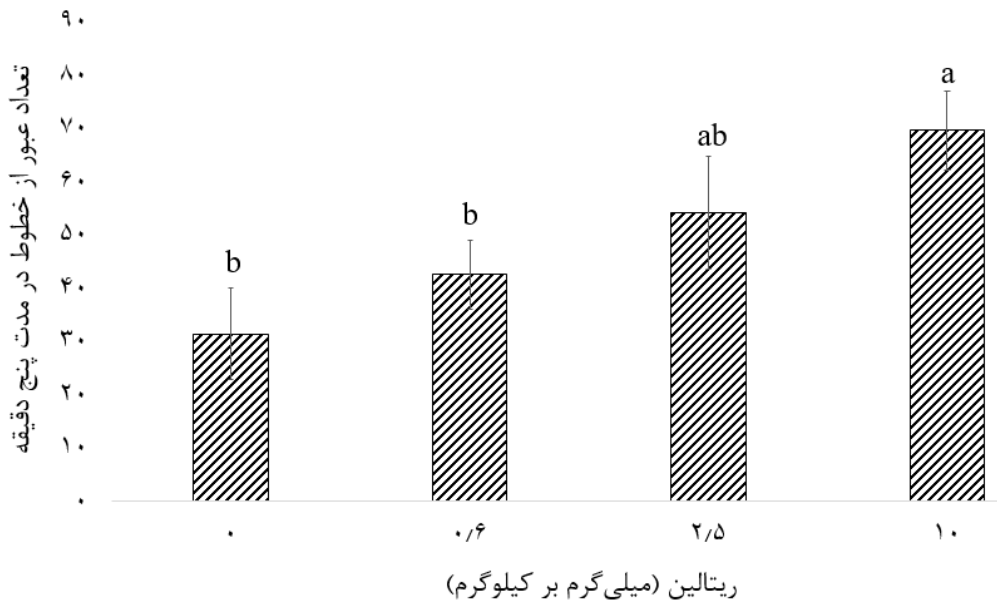
5. Duncan's multiple range test

1. anxiolytic drugs

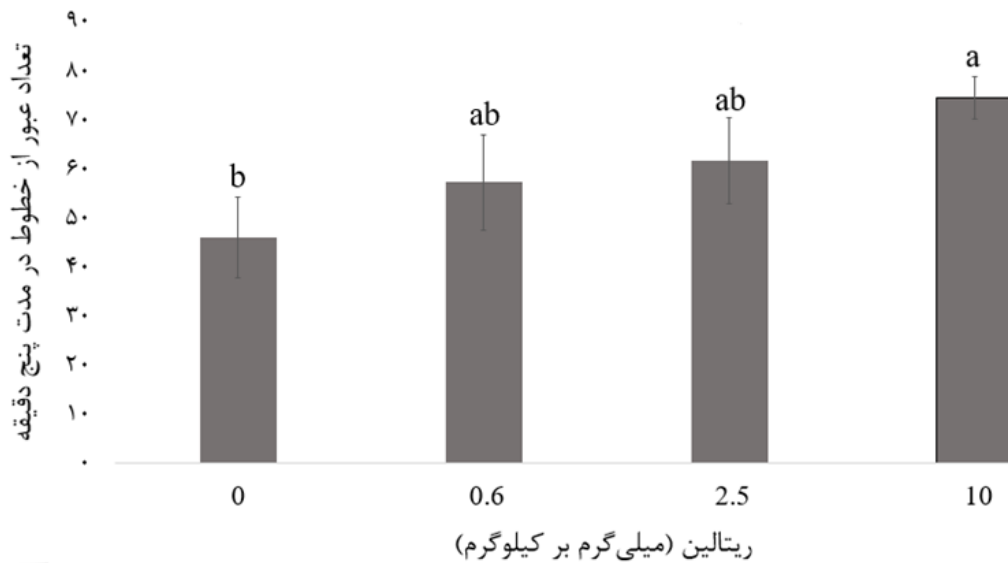
2. anxiogenic drugs

در تمامی گروه‌ها (کنترل و درمانی) نسبت به ماده‌ها بیشتر بود. اما این تفاوت‌ها در هیچ‌کدام از گروه‌ها معنی‌دار نبود. به منظور بررسی حساسیت رفتاری، در تمامی گروه‌های درمانی، تفاضل تعداد عبور از خطوط در تجویز حاد OF از تعداد عبور از خطوط در تجویز مزمن OF، به عنوان ایندکس تعریف شد و با ایندکس گروه کنترل خود، مقایسه شد (جدول ۱).

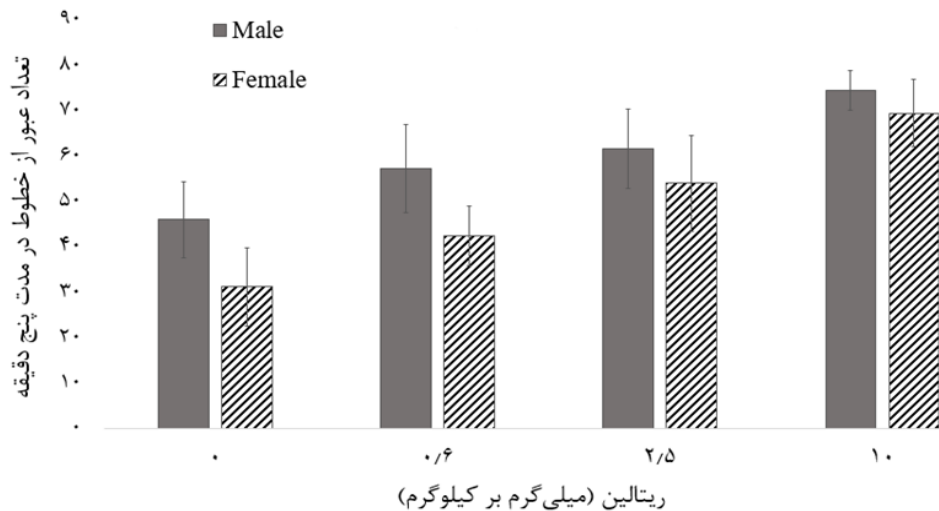
میلی‌گرم بر کیلوگرم در هر دو جنس این افزایش نسبت به گروه کنترل خودشان معنی‌دار ($P < 0.05$) بود. در جنس ماده، گروه دریافت کننده‌ی ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز یک افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) نسبت به گروه کنترل و همچنین نسبت به گروه درمانی ۰/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم نشان داد. همچنین بطور کلی تعداد عبور از خطوط در نرها



شکل ۱) اثر تجویز مزمن ریتالین در آزمون OF در جنس نر. داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ بیان شده‌اند. حروف نامشابه نشان دهنده‌ی معنی‌داری ($P < 0.05$) است.



شکل ۲) اثر تجویز مزمن ریتالین در آزمون OF در جنس ماده. داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ بیان شده‌اند. حروف نامشابه نشان دهنده‌ی معنی‌داری ($P < 0.05$) است.



شکل ۳) مقایسه اثر تجویز مزمن ریتالین در آزمون OF بین دو جنس نر و ماده. داده‌ها به صورت Mean±SEM بیان شده‌اند.

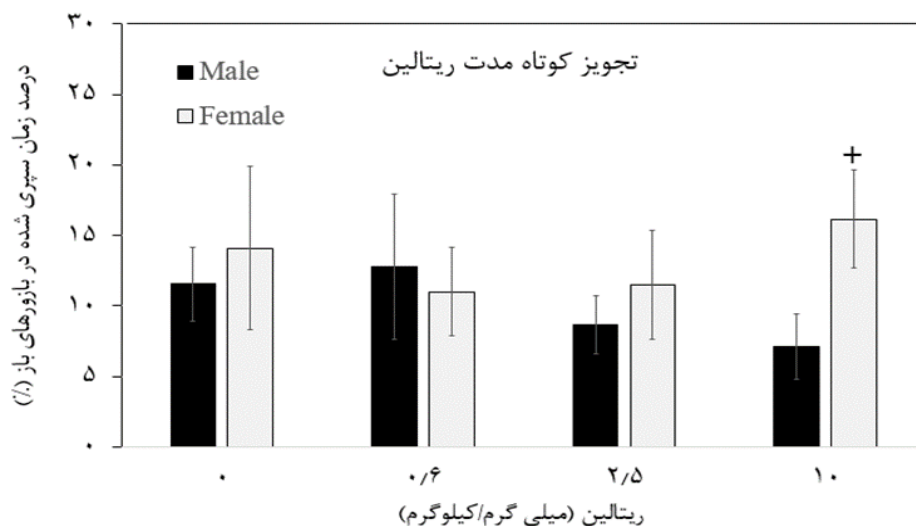
جدول ۱) تفاضل تعداد عبور از خطوط OF در تجویز حاد از مزمن

۱۰mg/kg	۲/۵mg/kg	۰/۶mg/kg	کنترل	
-۱۸/۸ ± ۴/۹۷	-۴ ± ۱/۶۷	۶ ± ۲/۷۷	۱۷/۲ ± ۴/۹۷	جنس نر
-۲۴/۲ ± ۴/۱۰	-۱۳/۶ ± ۴/۸۴	۱۰/۲ ± ۳/۸۶	۲۷ ± ۱۳/۱۳	جنس ماده

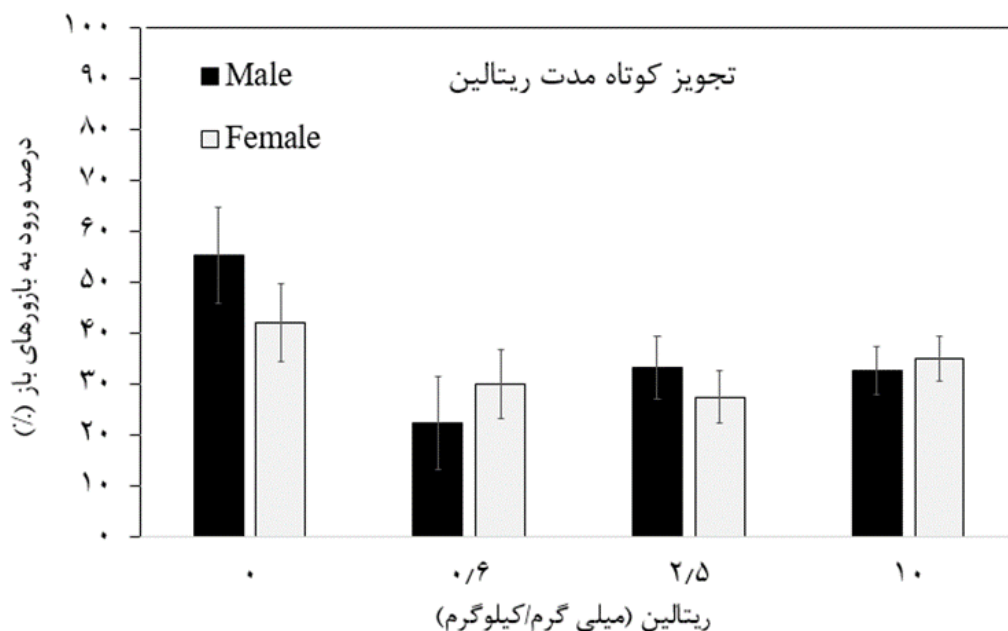
داده‌ها به صورت Mean±SEM بیان شده‌اند. * به معنای تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) با گروه کنترل خود است.

زمان سپری شده در بازوهای باز شد، ولی دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب افزایش این پارامتر در مقایسه با گروه کنترل شد. اگرچه تغییرات در هیچ کدام از گروه‌ها معنی‌دار نبود. با توجه به شکل ۴ تنها تفاوت معنی‌دار در مقایسه‌ی دو جنس نر و ماده، در دوز ۱۰ mg/kg مشاهده شد که درصد زمان سپری شده در بازوهای باز در ماده‌ها به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) بیشتر از نرها بود.

نتایج آزمون ماز بعلاوه مرتفع تجویز کوتاه‌مدت ریتالین: درصد زمان سپری شده در بازوهای باز در گروه‌های دریافت کننده کوتاه‌مدت ریتالین در شکل ۴ نمایش داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود با افزایش دوز دارو در جنس نر، درصد زمان سپری شده در بازوهای باز کاهش یافت اما این کاهش در هیچ کدام از گروه‌ها نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود. در جنس ماده نیز مقادیر کم ریتالین موجب کاهش درصد



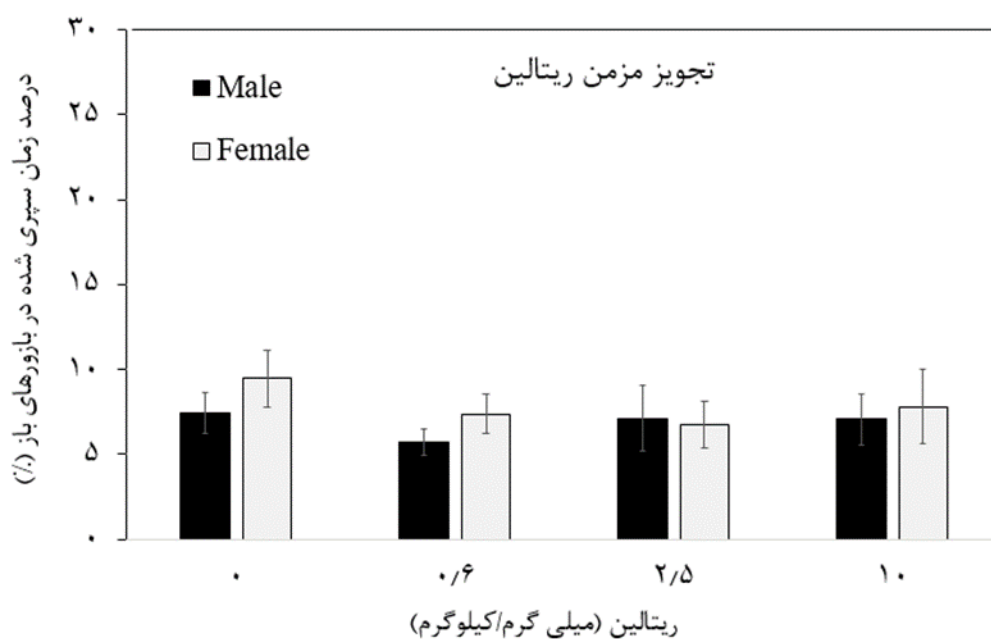
شکل ۴) درصد زمان سپری شده در بازوهای باز در آزمون EPM در مدت پنج دقیقه. داده‌ها به صورت Mean±SEM بیان شده‌اند.



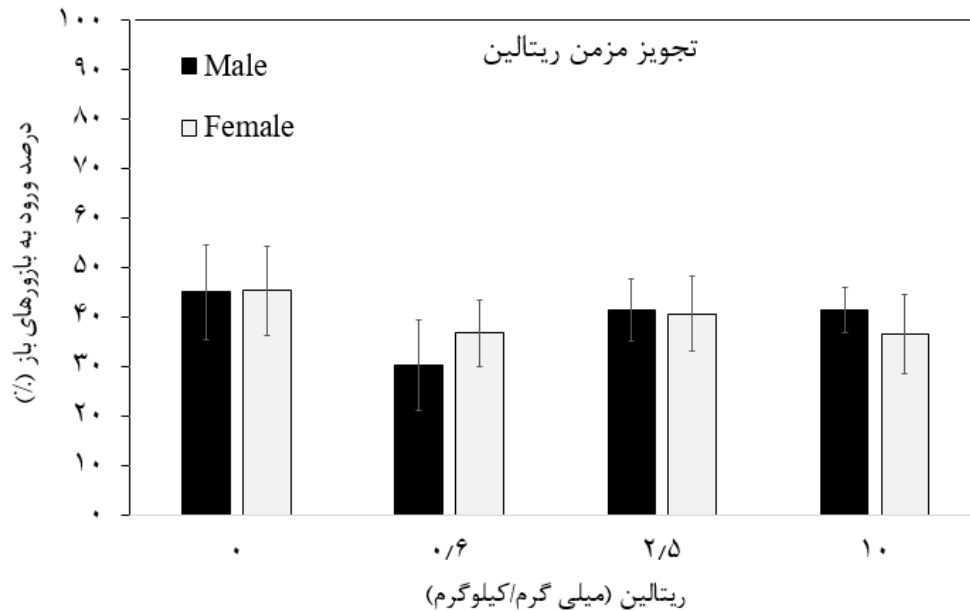
شکل ۵) درصد ورود به بازوهای باز در آزمون EPM در مدت پنج دقیقه. داده‌ها به صورت Mean±SEM بیان شده‌اند.

میانگین درصد ورود به بازوهای باز به دنبال تجویز مزمن ریتالین در شکل ۷ مشاهده می‌شود. در هر دو جنس نر و ماده هیچ کدام از گروه‌های درمانی تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشت.

تجویز مزمن ریتالین: میانگین درصد زمان سپری شده در بازوهای باز به دنبال تجویز طولانی‌مدت ریتالین، در شکل ۶ نمایش داده شده است. همانطور که قابل مشاهده است، تجویز مزمن ریتالین در هر دو جنس نر و ماده با افزایش دوز موجب کاهش درصد ورود به بازوهای باز در آزمون EPM شد. هرچند که در هیچ کدام از گروه‌ها معنی‌دار نبود.



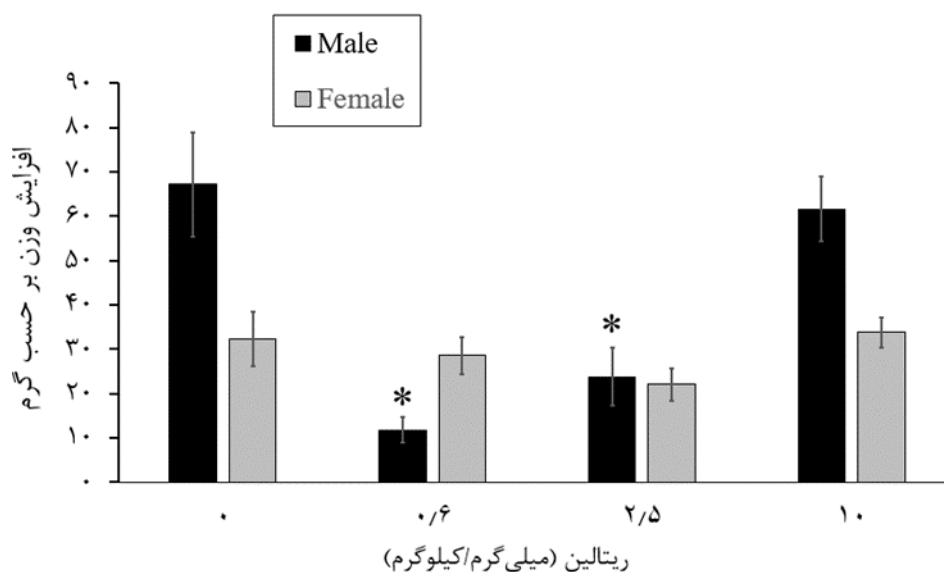
شکل ۶) درصد زمان سپری شده در بازوهای باز در آزمون EPM در مدت پنج دقیقه. داده‌ها به صورت Mean±SEM بیان شده‌اند.



شکل ۷) درصد ورود به بازوهای باز در آزمون EPM در مدت پنج دقیقه. داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ بیان شده‌اند.

در ماده‌ها نیز وزن‌گیری در دوزهای کم (۰/۶ و ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل کاهش یافت؛ هرچند این کاهش معنی‌دار نبود. در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز هیچ تغییر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل حاصل نشد. همچنین حیوانات ماده‌ی درمان شده با ۰/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم ریتالین به‌طور معنی‌داری نسبت به نرهای همتای خود وزن‌گیری بیشتری داشتند.

وزن‌گیری: در طول ۳۰ روز مطالعه، میانگین وزن‌گیری بر حسب گرم در دو جنس نر و ماده در شکل ۸ نشان داده شده است. در نرها وزن‌گیری در دوزهای کم (۰/۶ و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل کاهش یافت؛ تجویز ریتالین به مقدار ۰/۶ و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش معنی‌دار ($P < 0.05$) در وزن‌گیری شده است؛ درحالی‌که در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تغییر معنی‌داری مشاهده نشد.



شکل ۸) وزن‌گیری موش‌های صحرائی نر و ماده‌ی درمان شده با ریتالین به مدت ۳۰ روز. داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ بیان شده‌اند. * ملاک معنی‌داری ($P < 0.05$) با گروه کنترل خود.

بحث

از آنجایی که تعداد عبور از خطوط در جلسه آزمون حاد که در واقع جلسه‌ی مواجهه‌ی حیوانات با یک محیط جدید^۱ بود، در تمامی گروه‌های کنترل نر و ماده در حد نرمال بود، پس می‌توان نتیجه گرفت که حیوانات فاقد هرگونه نقص در فعالیت حرکتی بوده‌اند؛ بنابراین در این مطالعه تمام تست-های رفتاری در فقدان هرگونه نقص در فعالیت حرکتی اجرا شدند. همچنین هیچگونه تغییر معنی‌دار در فعالیت حرکتی به دنبال تجویز کوتاه‌مدت ریتالین در دو جنس نر و ماده یافت نشد.

نتایج نشان داد که مصرف درازمدت ریتالین می‌تواند به‌طور وابسته به دوز فعالیت حرکتی را در هر دو جنس نر و ماده افزایش دهد (شکل ۱ و ۲). همچنین به‌طور کلی نرها فعالیت حرکتی بیشتری نسبت به ماده‌ها از خود نشان دادند (شکل ۳). افزایش فعالیت حرکتی در مصرف‌کنندگان این دارو، ممکن است به بیش‌فعالی ناشی از ADHD دامن بزند. یکی از مهمترین علل افزایش فعالیت حرکتی، افزایش کاتیکول‌آمین‌هایی همچون دوپامین و نورآدرنالین است که در نواحی مختلف مغز و به دنبال مصرف ریتالین افزایش می‌یابد (۲۱).

هم‌راستا با مطالعه‌ی حاضر، در مطالعه‌ای که موش‌های صحرایی ۳۵ روزه (دوره جوانی و بلوغ) به مدت ۱۳ هفته در معرض دوز کم و دوز زیاد از ریتالین قرار گرفتند، نشان داده شد که فعالیت حرکتی در هر دو جنس نر و ماده به دنبال مصرف طولانی‌مدت ریتالین افزایش می‌یابد (۲۲). همچنین در مطالعه چلاریو، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار فعالیت حرکتی بیشتری نسبت به ماده‌ها نشان دادند (۴).

در مطالعه‌ی دیگری موش‌های صحرایی نوجوان (۲۱ روزه) هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری به دنبال تجویز درازمدت دوزهای دو، سه و پنج میلی‌گرم بر کیلوگرم ریتالین مشاهده نشد (۲۳). لازم به ذکر است که تفاوت مطالعه آنان با مطالعه اخیر این بود که آنها در مطالعه خود اثرات مزمن دارو را پس از دوره پرهیز از مصرف ۱۴ روزه بررسی کردند بنابراین این چنین به نظر می‌رسد که اثرات درازمدت دارو بر فعالیت حرکتی گذرا است و با قطع مصرف دارو از بین می‌رود. اگرچه شرر و همکاران نیز نشان دادند که مصرف درازمدت دو میلی‌گرم بر

کیلوگرم از ریتالین تغییر معنی‌داری بر فعالیت حرکتی موش‌های صحرایی نوجوان (۱۵ روزه) ایجاد نمی‌کند (۱۷). مطالعات نشان می‌دهند که گیرنده‌ی 5HT_{1A} احتمالاً در تنظیم دوپامین نقش دارد؛ بنابراین بجز مهار DAT، مکانیسم‌های دیگری نیز در تنظیم دوپامین و متعاقباً تغییر فعالیت حرکتی نقش دارند (۲۴). ژانگ و همکاران نشان دادند که دوز بالای ریتالین بر گیرنده‌های NMDA^۲ قشر پیش‌پیشانی تأثیر گذاشته و در نهایت منجر به افزایش فعالیت حرکتی می‌شود (۲۵).

نتایج مطالعه اخیر نشان داد که مصرف درازمدت از دوز ۲/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از ریتالین می‌تواند در هر دو جنس نر و ماده حساسیت رفتاری را ایجاد کند. این موضوع می‌تواند به تکانشگری ناشی از ADHD دامن بزند و آن را بدتر کند.

همسو با این نتایج، تجویز دوز یک میلی‌گرم بر کیلوگرم از ریتالین به مدت ۳۰ روز از طریق گاواژ در یک مطالعه نشان داد که تعداد عبور از مربع به مربعی دیگر که شاخصه‌ای از فعالیت حرکتی در OF است، در دوز یک میلی‌گرم بر کیلوگرم در طول شش هفته به آرامی افزایش یافت. این نتایج پیشنهاد می‌دهد که ریتالین در درازمدت رفتار حساسیت را ایجاد می‌کند. به‌طور کلی، رفتار حساسیت یک نوع پدیده است که ممکن است به اعتیاد دارویی بیانجامد (۲۱).

در سوی دیگر، دوزهای مشابه با تحقیق اخیر (۰/۶، ۲/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۸ روز ناپیوسته (روز یک، دو تا هفت و یازده) به موش‌های صحرایی ۳۴ روزه (جوان) به‌صورت داخل صفاقی تجویز شد و نتایج نشان داد که تجویز مزمن دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش فعالیت حرکتی در مقایسه با گروه‌های همتای خود در تجویز کوتاه‌مدت دارو در هر دو جنس نر و ماده شد. این موضوع تحمل رفتاری^۳ را نشان می‌دهد. همچنین قابل ذکر است که نرهای نژاد ویستار در گروه درمانی ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری فعالیت حرکتی بیشتری نسبت به همتهای ماده خود دارند که البته به‌دلیل اینکه این تفاوت‌های جنسی غالباً پیش از بلوغ مشاهده می‌شود، احتمالاً به دلیل فاکتوری

2. N-methyl D-aspartate

3. behavioral tolerance

1. novel environment

کمتری در گروه‌های درمانی نسبت به نرها نشان دادند (۲۶). این موضوع می‌تواند با افزایش کورتیزول خون به دنبال تجویز مزمن ریتالین توجیه شود (۲۹). همچنین در بیشتر مطالعات در انسان، مردان کورتیزول بیشتری نسبت به زنان در پاسخ به شرایط استرسی از خود نشان دادند (۳۰).

نتایج مطالعه اخیر نشان داد که دوزهای درمانی ریتالین (۰/۶ و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در درازمدت می‌توانند موجب کاهش وزن‌گیری در موش‌های صحرایی بالغ جنس نر نژاد ویستار شوند. همچنین وزن‌گیری در ماده‌ها بسیار کمتر از نرها دستخوش تغییرات ناشی از درمان درازمدت با ریتالین است.

یک مطالعه مروری، اثرات مصرف کوتاه‌مدت و درازمدت ریتالین بر وزن‌گیری در بیماران ADHD را بررسی کرد و مشخص شد که مصرف این دارو سبب کاهش وزن‌گیری در بیماران می‌شود که احتمالاً وابسته به دوز است. البته اکثر این کاهش‌ها در وزن‌گیری گذرا بوده و با قطع مصرف ریتالین، محو می‌شوند (۱۹).

در حیوانات آزمایشگاهی نیز تحقیقات متعددی در این زمینه انجام شده است. برای مثال دوز کم ۰/۴ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از ریتالین به مدت ۱۳ هفته از طریق آب آشامیدنی به موش‌های صحرایی نژاد Sprague-Dawley تجویز و کاهش وزن‌گیری در هر دو جنس نر و ماده به‌طور وابسته به دوزی مشاهده شد؛ به این صورت که با افزایش دوز، کاهش وزن‌گیری شدیدتر بود؛ این درحالی است که این اثر جانبی در دوره پرهیز از مصرف کاملاً از بین رفت (۲۲). در مطالعه ای دیگر که بر روی موش‌های صحرایی یک ماهه از همان نژاد (SD) انجام شد، دوز بالای ریتالین (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) سبب کاهش وزن‌گیری در هر دو جنس شده؛ اما فقط در ماده‌ها سبب افزایش دریافت غذا شد (۲۰).

در مطالعه‌ای دیگر، تجویز دوز دو، پنج و هشت میلی‌گرم بر کیلوگرم ریتالین در موش‌های صحرایی به مدت چهار هفته، افزایش وزن‌گیری و دریافت غذا را به‌طور معنی‌داری نشان داد (۳۱). همچنین بسیاری از تحقیقات نشان داده‌اند که دوز درمانی ریتالین تغییر معنی‌داری در وزن‌گیری ایجاد نمی‌کند. برای مثال دوز سه میلی‌گرم بر کیلوگرم ریتالین در وزن‌گیری موش‌های صحرایی نر و ماده تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد (۳۲).

(فاکتورهای) بجز هورمون‌های تولیدمثلی است (۴). همان‌طور که اشاره شد برای بررسی رفتار اضطرابی (شبه اضطرابی) از دستگاه EPM استفاده شد. داروهای ضد اضطرابی تعداد ورود به بازوهای باز و زمان گذرانده‌شده در بازوی باز را افزایش می‌دهند؛ درحالی که ترکیبات اضطراب‌زا باعث کاهش زمان‌های گفته شده می‌شوند (۱۸).

در مطالعه اخیر مشاهده شد که دوزهای کم (۲/۵ mg/kg و ۰/۶) و زیاد (۱۰ mg/kg) ریتالین چه در کوتاه‌مدت و چه در درازمدت تغییر معنی‌داری در میزان اضطراب نرها و ماده‌ها ایجاد نکرد که این موضوع پیشنهاد می‌دهد که ریتالین در دوزهای درمانی اثر مشخصی بر میزان اضطراب ندارد. همچنین از آنجایی که با تجویز کوتاه‌مدت دوز ۱۰ mg/kg، زمان سپری‌شده در بازوهای باز در ماده‌ها به‌طور معنی‌داری نسبت به نرها بیشتر بود ($P < 0/05$)، این فرضیه را پیش روی می‌گذارد که ماده‌ها نسبت به نرها اضطراب کمتری در پاسخ به تجویز حاد از دوز بالای ریتالین نشان می‌دهند. ممکن است این نوع تفاوت‌های جنسی، در ارتباط با سن باشند (۲۶) یا به این دلیل که کورتیزول در شرایط استرسی در نرها بیشتر از ماده‌ها بروز پیدا می‌کند (۲۷). هم‌راستا با مطالعه حاضر، دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از ریتالین که چهار بار در روز (با فواصل ۲ ساعت) در موش‌های صحرایی نژاد SD به سن ۱۱ تا ۲۰ روزه (جهت مقایسه با مغز کودک انسان در دوره سوم آبستنی) به‌صورت زیرجلدی تجویز شد، هیچ تغییر معنی‌داری در اضطراب در دستگاه Elevated zero maze مشاهده نشد (۲۸). هم‌راستا با مطالعه حاضر، در مطالعه مارتین و همکاران نیز ماده‌ها اضطراب کمتری نسبت به نرها در ماز بعلاوه مرتفع از خود نشان دادند (۲۲).

در مطالعه‌ی دیگر، دوز دو و پنج میلی‌گرم بر کیلوگرم از ریتالین در موش‌های صحرایی بالغ به مدت ۱۰ روز تجویز شد و سپس ۴۰ روز بعد، آزمون EPM انجام شد. در گروه دریافت‌کننده‌ی پنج میلی‌گرم بر کیلوگرم، درصد زمان ورود به بازوهای باز در هر دو جنس نر و ماده کاهش یافت که نشان می‌دهد که پاسخ‌های ضد اضطرابی^۱ به دنبال تجویز مزمن ریتالین کاهش می‌یابد (افزایش اضطراب). همچنین هم‌راستا با مطالعه‌ی حاضر، ماده‌ها به‌طور کلی اضطراب

1. anxiolytic responses

منابع

1. Yang PB, Amini B, Swann AC, Dafny N. Strain differences in the behavioral responses of male rats to chronically administered methylphenidate. Vol. 971, Brain Research. 2003. p. 139–52.
2. Vanderschuren LJM, Kalivas PW. Anatomical substrates for dopamine and glutamate involvement in sensitization. 2000. p. 99–120.
3. Wolgin DL. The Role of Instrumental Learning in Behavioral Tolerance to Drugs. In: Psychoactive Drugs. 1989.
4. Chelaru MI, Yang PB, Dafny N. Sex differences in the behavioral response to methylphenidate in three adolescent rat strains (WKY, SHR, SD). Behav Brain Res. 2012 Jan 1;226(1):8–17.
5. Dafny N, Yang PB. The role of age, genotype, sex, and route of acute and chronic administration of methylphenidate: A review of its locomotor effects. Vol. 68, Brain Research Bulletin. 2006. p. 393–405.
6. Willcutt EG. The Prevalence of DSM-IV Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Meta-Analytic Review [Internet]. Vol. 9, Neurotherapeutics. 2012. p. 490–9. Available from: <http://link.springer.com/article/10.1007/s13311-012-0135-8/fulltext.html>
7. Rafiq A, Shah A. Stimulant-induced psychosis: Importance of patient education and compliance. Vol. 15, Primary Care Companion to the Journal of Clinical Psychiatry. 2013.
8. Morton WA, Stockton GG. Methylphenidate Abuse and Psychiatric Side Effects. Prim Care Companion J Clin Psychiatry [Internet]. 2000;2(5):159–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15014637> %0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC181133
9. Volkow ND, Ding Y-S, Fowler JS, Wang G-J, Logan J, Gatley JS, et al. Is Methylphenidate Like Cocaine? Studies on Their Pharmacokinetics and Distribution in the Human Brain [Internet]. Available from: <http://archpsyc.jamanetwork.com/>
10. Scahill L, Carroll D, Burke K, Carroll D, Burke K. Psychopharmacology Notes Methylphenidate: Mechanism of Action and Clinical Update. 2004;17(2).
11. Jalilian F, Karami Matin B, Mirzaei Alavijeh M, Ataee M, Mahboubi M, Motlagh F, et al. Prevalence and Factor Related to Ritalin Abuse among Iranian Medical College Student: An Application of Theory of Planned Behavior [Internet]. Vol. 85, Res. 2013. p. 22–7. Available from: http://www.sdh.yums.ac.ir/uploads/Prevalence_and_Factor.pdf
12. Cherland E, Fitzpatrick R. Psychotic Side Effects of Psychostimulants: A 5-Year Review.
13. Becker JB. Gender differences in dopaminergic function in striatum and nucleus accumbens. Vol.

از یک طرف در مطالعات متعددی همانند مطالعه اخیر مشخص شده است که ریتالین در درازمدت وزن‌گیری را کاهش می‌دهد. از سویی دیگر در بسیاری از همین مطالعات نشان داده شده است که این دارو باعث افزایش دریافت غذا می‌شود. این موضوع، این فرضیه را پیش‌رو می‌گذارد که کاهش وزن ناشی از ریتالین ممکن است به دلیل اثرات متابولیکی دارو باشد یا ممکن است همانند کوکائین باعث افزایش مصرف انرژی شود؛ چنانچه در آزمون OF شاهد افزایش فعالیت حرکتی هستیم. در تایید این گفته، مطالعه کومیم و همکاران نشان داد که مصرف مزمن ریتالین می‌تواند سبب افزایش متابولیسم انرژی در مغز شود (۳۳).

به هرحال، طیف وسیع تفاوت‌ها در نتایج به نظر می‌رسد ناشی از تفاوت‌ها در روش کار باشند؛ مثلاً دوز تجویزی، مدت تجویز و گونه‌های مورد مطالعه از مواردی هستند که می‌توانند مسبب این نتایج مختلف باشند.

نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف درازمدت دوز بالای ریتالین می‌تواند موجب افزایش فعالیت حرکتی و ایجاد حساسیت رفتاری شود. همچنین ریتالین در دوزهای درمانی اثر مشخصی بر میزان اضطراب ندارد. به طور کلی تغییرات مشاهده شده در مطالعه حاضر، وابسته به دوز و جنسیت بود. در تفاوت‌های جنسی، عواملی همچون هورمون‌های جنسی، تراکم گیرنده‌های دوپامین و تراکم مکان‌های اتصال به ترانسپورترهای دوپامین (DAT binding) در نواحی مختلف مغز دخیل هستند. برای مثال DAT در استریاتوم موش‌های صحرایی جنس ماده دارای مکان‌های اتصال بیشتری با دوپامین نسبت به جنس نر است. شاید این موضوع بتواند تغییرات رفتاری شدیدتر را که در نرها مشاهده شده است، توجیه کند (۳۴). (Wagner و همکاران، ۲۰۰۷). در پایان نیز باید توجه داشت که پژوهش حاضر نیز مانند سایر پژوهش‌ها دارای محدودیت‌هایی نظیر حجم کم نمونه و مدت زمان مطالعه است. توصیه می‌شود در مطالعات آینده اثرات تجویز درازمدت و کوتاه مدت ریتالین در افراد مبتلا به ADHD به ویژه از نظر تاثیر بر میزان اضطراب بررسی شود. همچنین مطالعات پیگیری در دوزهای مختلف و دوره‌های طولانی‌تر انجام شود تا اثرات دارو با قطعیت بیشتری محاسبه شود.

24. Markowitz JS, DeVane CL, Ramamoorthy S, Zhu HJ. The psychostimulant d-threo-(R,R)-methylphenidate binds as an agonist to the 5HT1A receptor. *Pharmacol Ther*. 2009 Feb;64(2):123–5.
25. Goel. Zhang et. 2015;3949(1):3949.
26. Crawford CA, Der-Ghazarian T, Britt CE, Varela FA, Kozanian OO. Novelty-induced conditioned place preference, sucrose preference, and elevated plus maze behavior in adult rats after repeated exposure to methylphenidate during the preweaning period. *Behav Brain Res*. 2013 Jun 1;246:29–35.
27. Haller J, Fuchs E, Halász J, Makara GB. Defeat is a major stressor in males while social instability is stressful mainly in females: Towards the development of a social stress model in female rats. *Vol. 50, Brain Research Bulletin*. 1999. p. 33–9.
28. Amos-Kroohs RM, Williams MT, Vorhees C V. Neonatal methylphenidate does not impair adult spatial learning in the Morris water maze in rats. *Vol. 502, Neuroscience Letters*. 2011. p. 152–6.
29. Motaghinejad M, Motevalian M, Shabab B. Effects of chronic treatment with methylphenidate on oxidative stress and inflammation in hippocampus of adult rats. *Neurosci Lett*. 2016 Apr 21;619:106–13.
30. Kudielka BM, Kirschbaum C. Sex differences in HPA axis responses to stress: A review. *Vol. 69, Biological Psychology*. 2005. p. 113–32.
31. Alam N, Pharm Sci PJ, Najam R. Effect of repeated oral therapeutic doses of methylphenidate on food intake and growth rate in rats [Internet]. *Vol. 28*. 2015. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/270342878>
32. Zhu N, Weedon J, Dow-Edwards DL. Oral Methylphenidate Improves Spatial Learning and Memory in Pre- and Periadolescent Rats. *Behav Neurosci*. 2007 Dec;121(6):1272–9.
33. Comim CM, Gomes KM, Réus GZ, Petronilho F, Ferreira GK, Streck EL, et al. Methylphenidate treatment causes oxidative stress and alters energetic metabolism in an animal model of attention-deficit hyperactivity disorder. *Vol. 26, Acta Neuropsychiatrica*. 2014. p. 96–103.
34. Wagner AK, Kline AE, Ren D, Willard LA, Wenger MK, Zafonte RD, et al. Gender associations with chronic methylphenidate treatment and behavioral performance following experimental traumatic brain injury. *Behav Brain Res*. 2007 Aug 6;181(2):200–9.
64. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1999. p. 803–12.
14. Daniel JM, Roberts SL, Dohanich GP. Effects of ovarian hormones and environment on radial maze and water maze performance of female rats. *Vol. 66, Physiology and Behavior*. 1999. p. 11–20.
15. Hooge RD', De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory [Internet]. *Vol. 36, Brain Research Reviews*. 2001. Available from: www.elsevier.com/locate/bres
16. Vianna MRM, Izquierdo LA, Barros DM, De Souza MM, Rodrigues C, Sant'Anna MK, et al. Pharmacological differences between memory consolidation of habituation to an open field and inhibitory avoidance learning. *Vol. 34, Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2001. p. 233–40.
17. Scherer EBS, da Cunha MJ, Matté C, Schmitz F, Netto CA, Wyse ATS. Methylphenidate affects memory, brain-derived neurotrophic factor immunoreactivity and brain acetylcholinesterase activity in the rat. *Neurobiol Learn Mem [Internet]*. 2010 Sep;94(2):247–53. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S107474271000105X>
18. B Silva RC, Brandão ML. Acute and Chronic Effects of Gepirone and Fluoxetine in Rats Tested in the Elevated Plus-maze: An Ethological Analysis. *Vol. 65, Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2000.
19. Rapport MD, Moffitt C. Attention deficit/hyperactivity disorder and methylphenidate A review of height/weight, cardiovascular, and somatic complaint side effects.
20. Robison LS, Ananth M, Hadjiargyrou M, Komatsu DE, Thanos PK. Chronic oral methylphenidate treatment reversibly increases striatal dopamine transporter and dopamine type 1 receptor binding in rats. *J Neural Transm*. 2017;124(5).
21. Haleem DJ, Inam Q-A, Haleem MA. Effects of clinically relevant doses of methylphenidate on spatial memory, behavioral sensitization and open field habituation: A time related study. *Behav Brain Res [Internet]*. 2015 Mar 15 [cited 2019 Jun 28];281:208–14. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432814008274>
22. Martin C, Fricke D, Vijayashanthar A, Lowinger C, Koutsomitis D, Popoola D, et al. Recovery from behavior and developmental effects of chronic oral methylphenidate following an abstinence period. *Pharmacol Biochem Behav*. 2018 Sep 1;172:22–32.
23. LeBlanc-Duchin D, Taukulis HK. Chronic oral methylphenidate administration to periadolescent rats yields prolonged impairment of memory for objects. *Neurobiol Learn Mem*. 2007 Oct;88(3):312–20.