Archive of SID

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان- جلد ۶، شماره ۱، پائیز ۱۳۸۳

اثر مهاری اسید اسکوربیک بر ایجاد وابستگی به هروئین در موش صحرایی

احسان دودانگه بالاخانی[۱،۲*](Ph.D)، فرید عسگری[۲](M.Sc)

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، گروه پرستاری

۲- دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

چکیده

سابقه و هدف: شواهد زیادی در دست است که آزاد شدن دوپامین از انتهای نرون‌های دوپامینرژیک ناحیهٔ تگمنتوم شکمی هنگام مصرف هروئین افزایش می‌یابد و اسید اسکوربیک، میزان آزاد شدن آن را تنظیم می‌کند. هدف از انجام این تحقیق تعیین اثر سه دوز مختلف اسیداسکوربیک بر وابستگی هروئین بود.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار از طریق جراحی استریل در ورید ژوگولار سمت راست کانول‌گذاری شدند. پس از طی دوره بهبودی، موش‌ها در سه گروه کنترل، هروئین و اسید اسکوربیک از طریق روش خود تزریقی وریدی دو پداله (پدال فعال و غیرفعال) هر روز در یک جلسه ۲ ساعته، مطالعه شدند. طول مدت آزمایش بعد از بهبودی شامل ۱۵ روز بود که ۵ روز اول با گرسنگی و ۱۰ روز باقی‌مانده بدون گرسنگی انجام شد. حیوان با زدن پدال فعال، در گروه کنترل ۰/۱ ml نرمال سالین ولی در گروه‌های دیگر ۰/۱ ml محلول هروئین (۰/۲۵ mg/ml) دریافت می‌کرد. گروه اسید اسکوربیک شامل سه زیر گروه بود (a، b و c)؛ که ۳۰ دقیقه قبل از خودتزریقی، به ترتیب مقادیر (۷۰۰mg/kg.IP، ۳۰۰ و ۱۰۰) اسیداسکوربیک دریافت می‌کردند.

یافته‌ها: تزریق اسید اسکوربیک تعداد پدال‌های فعال زده شده را به‌طور محسوسی کاهش داد و الگوی خودتزریقی هروئین را دچار تغییر نمود. نتایج تعداد پدال‌های فعال و غیرفعال (Mean±SEM) به قرار زیر است:

نوع پدال	گروه سالین	گروه هروئین	اسکوربات a	اسکوربات b	اسکوربات c
غیرفعال	۱/۹۷±۰/۱۸	۶/۴۸±۰/۳۹	۶/۰۳±۰/۳۴	۵/۶۵±۰/۳۵	۵/۱۱±۰/۳۱
فعال	۱۱/۱۳±۰/۶۲	۴۱/۴۸±۱/۸۲	۲۵/۶۸±۱/۰۷	۲۵/۲۴±۱/۰۵	۲۳/۸۹±۰/۹۴

نتیجه‌گیری: تزریق اسید اسکوربیک اثر تقویتی و تشویقی هروئین را تضعیف کرده و از ایجاد وابستگی به آن جلوگیری می‌کند و در این رابطه تفاوتی بین دوزهای به‌کار رفته اسکوربات مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: اسید اسکوربیک، هروئین، خودتزریقی، VTA (ناحیه تگمنتوم شکمی)

مقدمه

تا کنون روش‌ها و داروهای زیادی برای مقابله با وابستگی به مواد مخدر مورد استفاده قرار گرفته که یکی از مهم‌ترین آن‌ها، استفاده از اعتیاد جایگزین بوده و در این مورد داروی متادون بیش‌تر از بقیه داروها مورد استفاده قرار گرفته است [۱،۲،۵،۶،۸]. تقریباً تمام اقدامات صورت گرفته، در جهت درمان وابستگی به این مواد بوده و خیلی کم به پیش‌گیری از وابستگی پرداخته شده است. بنابراین با توجه به شواهدی که توضیح داده خواهد شد، در این مطالعه سعی شده که بیش‌تر به مسأله جلوگیری از ایجاد وابستگی به مواد مخدر توجه شود. در این مطالعه، ما سعی کردیم با توجه به اهمیت سیستم پاداش مغزی و

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۴۱-۲۷۷۰۶۹۸، نمابر: ۰۴۴۱-۲۷۸۰۸۰۱، E-mail: ehsaan48@hotmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۲/۱۱/۷؛ تاریخ پذیرش: ۸۳/۷/۱۸

www.SID.ir

Archive of SID

اثر اسید اسکوربیك بر این سیستم، اثر این ماده را بر وابستگی به هروئین مطالعه کنیم. برای اکثر موارد سوء مصرف، به‌استثناء الکل میانجی‌های عصبی یا گیرنده‌های اختصاصی مربوط به این ناقل‌های عصبی شناسایی شده است [١٩،٢٠،١٣،١٦]. مثلاً ترکیبات تریاك بر گیرنده‌های اپیوئیدی اثر می‌کنند؛ بنابراین کسی که در بدن او فعالیت افیونی درونزا کم است یا فعالیت آنتاگونیستی افیونی درونزا (احتمالی) خیلی‌بالاست، ممکن است در خطر ابتلا به وابستگی به ترکیبات تریاك قرار داشته باشد [٧،٩،١٢،٢٠]. نرون‌های دوپامینرژیك ناحیه تگمنتوم شکمی (Ventral tegmental area VTA) که به نواحی قشری و سیستم لیمبیك به‌ویژه هسته اکومنبس کشیده می‌شوند، در پدیده وابستگی به مواد مخدر اهمیت زیادی دارند. تصور می‌شود، این مسیر ویژه بخش اصلی سیستم پاداش مغزی باشد. به نظر می‌رسد که عمده اثرات موادی نظیر آمفتامین، کوکائین وتریاك از طریق همین مسیر اعمال می‌شود [١٢،٦،٣،٢]. از آن‌جا که بیش‌تر نورن‌های این مرکز، دوپامینرژیك بوده و به هسته اکومنبس کشیده می‌شوند، هروئین و مرفین می‌توانند از طریق آن، رفتارهای وابسته به دوپامین را تشدید کنند [٩،١١،١٢،١٥]. تزریق داخل وریدی هروئین به حیوان، فعالیت نرون‌های دوپامینرژیك VTA را به شدت افزایش می‌دهد ولی تزریق آنتاگونیست‌های مواد مخدر مثل نالوکسان این فعالیت‌ها را در موش‌های معتاد به شدت کاهش می‌دهد [٤،٧،٨،١٤،١٨،١٧].

اسید اسکوربیك به عنوان یك ویتامین محلول در آب در اعمال بسیاری دخالت دارد، که از بین آن‌ها خاصیت آنتی‌اکسیدان آن اهمیت زیادی دارد. این ویتامین به جذب آهن در روده کمك می‌کند و کوآنزیم بسیاری از آنزیم‌ها می‌باشد. اخیراً نقش تنظیم‌کننده سیستم عصبی (Neuromodulator) نیز برای آن مطرح شده است. اسکوربات در مغز، بیش از سایر بافت‌ها تجمع می‌یابد [٢٠،٢٣،٢٨،٢٩]. توزیع اسید اسکوربیك در نواحی Forebrain مغز بیش‌تر از نواحی دیگر است و غلظت خارج سلولی آن بیش از ١٠٠٠ برابر میانجی‌های عصبی نظیر دوپامین و سروتونین است [٢٩،٢٨،٣٠،٣١]. میزان اسید اسکوربیك در مایع خارج سلولی مغز تحت تأثیر میزان فعالیت مغزی، داروهای مؤثر بر روان و چرخه شبانه‌روزی می‌باشد. شواهد زیادی حکایت از آن دارد که رهایی اسکوربات در مایع خارج سلولی مغز به‌طور کاملاً روشن به سیستم بازجذب گلوتامات وابسته است. حامل بازجذب کننده گلوتامات هم در نرون‌ها و هم در گلیاها موجود است که به‌صورت انتقال مخالف با اسید اسکوربیك باعث بازجذب گلوتامات می‌شود. این حامل هم در نواحی سیناپسی و هم در نواحی غیرسیناپسی وجود دارد [٢١،٢٢،٢٩]. اسکوربات در سیتوپلاسم سلول پراکنده بوده و در داخل وزیکول‌ها متمرکز نیست و به همین دلیل آزاد شدن آن از سلول‌ها تابع اگزوسیتوز وابسته به کلسیم نیست. ولی همانند میانجی‌های عصبی، اسکوربات نیز به‌دنبال محرك‌های دپولاریزه‌کننده آزاد می‌شود [٢٣،٢٤،٢٨،٣٧]. گزارش شده است که اضافه کردن L – گلوتامات به نواحی مغزی نظیر کورتکس و هیپوکامپ، آزاد شدن اسکوربات را تشدید می‌کند که شدیداً به غلظت سدیم خارج سلولی وابسته است. به‌علاوه آنتاگونیست‌های گیرنده‌های گلوتامات باعث جلوگیری از آزاد شدن اسید اسکوربیك در این آزمایش‌ها نشد، ولی موادی که حامل گلوتامات را مهار می‌کنند این آزاد شدن را کاملاً بلوکه کردند. بنابراین به نظر می‌رسد که بازجذب گلوتامات با آزاد شدن اسید اسکوربیك توأم می‌شود [٢٨،٢٩،٣٢،٣٦].

مطالعات زیادی نشان می‌دهند که ترمینال‌های دوپامینرژیك، منشأ آزاد شدن اسید اسکوربیك نمی‌باشند ولی آزاد شدن اسکوربات با سیستم دوپامینرژیك درگیر است. شواهد جدید حکایت از آن دارد که جسم سیاه از طریق یك مدار چندسیناپسی می‌تواند باعث افزایش ترشح اسکوربات در نئواستریاتوم شود؛ چرا که به‌کار بردن آمفتامین موضعی در جسم سیاه باعث افزایش آزاد شدن اسکوربات در نئواستریاتوم می‌شود. این عمل به‌وسیله دوپامین نیز تقلید می‌شود و هالوپریدول (آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینی) آن را بلوکه می‌کند. به‌عبارت دیگر مؤید دخالت مکانیسم دوپامینرژیك جسم سیاه در آزاد شدن اسید اسکوربیك در استریاتوم است [٢٩،٣٣،٣٤].

www.SID.ir

Archive of SID

تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهند که اسیداسکوربیك در دوز بالا می‌تواند با جلوگیری از متابولیزه شدن اپیوئیدهای داخل مغزی، درد و میزان مصرف مواد مخدر را در بیماران سرطانی کاهش دهد و موجب تخفیف علایم ترك اعتیاد در بیماران معتاد به هروئین گردد [۸،۱۰،۱۱]. گزارش دیگری حکایت از آن دارد که اسکوربات در مطالعات in vitro گیرنده اپیوئیدها را تخریب می‌کند [۲۲،۳۲].

با توجه به تداخل اسید اسکوربیك در فعالیت دوپامینرژیك و گلوتامینرژیك مغز که هر دو از سیستم‌های مهم درگیر در وابستگی به مواد مخدر و همچنین بروز سندرم محرومیت می‌باشند، این مطالعه با این هدف انجام شد که معلوم کند آیا اسید اسکوربیك می‌تواند بر روند ایجاد وابستگی به هروئین تداخل کند و آیا دوزهای مختلف اسید اسکوربیك در این پدیده با هم تفاوت دارند؟

مواد و روش‌ها

الف) خودتزریقی وریدی (IV- Self administration). برای استفاده از روش خودتزریقی، قفس مخصوصی مورد استفاده قرار گرفت. این قفس که با الگوبرداری از نمونه خارجی در گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی اصفهان ساخته شده بود، خریداری گردید. قفس مذکور ابعادی حدود ۳۰×۲۰×۳۰cm داشته و در دو دیواره مقابل هم در داخل قفس دو تا پدال که از نظر ظاهری دقیقاً مثل هم هستند تعبیه شده است. فاصله پدال‌ها از کف قفس ۲ سانتی‌متر می‌باشد. یکی از پدال‌ها، پدال فعال بوده که در صورت فشار داده شدن از طریق مدار الکتریکی پمپی را روشن می‌کند و بسته به این‌که چه ماده‌ای در پمپ قرار داده شده باشد آن ماده در اختیار حیوان قرار می‌گیرد. همزمان با فشردن پدال فعال، یك لامپ قرمز رنگ کوچك نیز روشن شده و به یادگیری سریع‌تر کمك می‌کند. زمان روشن بودن چراغ قرمز رنگ و کارکرد پمپ، قابل تنظیم می‌باشد؛ ولی پدال غیرفعال این خصوصیات را ندارد. فشرده شدن هر دو پدال، به‌وسیله فیزیوگراف یا نرم‌افزار کامپیوتری مخصوص ثبت می‌گردد. قفس خودتزریقی مورد استفاده در این مطالعه با FR=1 (Fixed Ratio) و زمان خلاصی (Time out) ۱۰ ثانیه مورد استفاده قرار گرفت. یعنی اگر حیوان یك بار روی پدال فعال فشار دهد به مدت ۱۰ ثانیه لامپ قرمز کوچك و پمپ پریستالتیك روشن می‌شوند و اگر حیوان در طی ۱۰ ثانیه مجدداً روی همان پدال فشار دهد تأثیری در کار پمپ و لامپ نخواهد داشت و آن‌ها در پایان ۱۰ ثانیه از لحظه شروع، خاموش خواهند شد. چنان‌چه حیوان به پدال فشار وارد کرده و آن‌را بلافاصله رها سازد باز هم تأثیری در کار پمپ و لامپ نخواهد داشت و برابر زمان تنظیم شده که در این مطالعه ۱۰ ثانیه بود کار خواهد کرد [۳۵].

ب) جراحی و حیوانات آزمایشگاهی. موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۳۳۰-۲۷۰ گرم انتخاب شدند و دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته معکوس با دسترسی به آب و غذای آزاد در دما و رطوبت آزمایشگاه مد نظر قرار گرفت (روشنایی از ۷ عصر تا ۷ صبح). ۵ روز قبل از جراحی، موش‌های صحرایی به اتاقك خودتزریقی منتقل شده و روزانه به مدت ۲ ساعت آموزش داده شدند [۳۵]. آموزش به این ترتیب بود که موش‌ها با ۱۲ ساعت گرسنگی در قفس خودتزریقی قرار می‌گرفتند و از طریق فشار دادن پدال فعال، بسته‌های غذایی کوچك دریافت می‌کردند و در عرض ۵ روز کاملاً یاد می‌گرفتند که دو پدال موجود در قفس با هم متفاوت هستند و فشار دادن پدال فعال توأم با پاداش (غذا) می‌باشد.

بعد از آموزش اولیه، موش‌های صحرایی به ترتیب زیر جراحی شدند: با استفاده از کتامین (۱۵۰ mg/kg) و رامپون (۰/۱ mg/kg) به‌صورت داخل صفاقی (IP) موش‌ها بی‌هوش شدند [۵،۳۵]. پس از تأیید بی‌هوشی، جلوی گردن و روی سر حیوان با استفاده از ماشین اصلاح موزر آلمانی تراشیده شد و پس از ضدعفونی کامل به‌وسیله بتادین، پوست جلوی گردن باز و در ورید ژوگولار سمت راست حیوان یك کانول نازك از سر به سمت قلب قرار داده شد. کانول حدود ۲cm در داخل ورید قرار گرفت. سپس با استفاده از نخ جراحی سیلك ۰-۴ کانول را محکم به عضلات گردن فیکس و از پشت سر حیوان خارج کردیم. با استفاده از مته دندان‌پزشکی دو سوراخ در استخوان جمجمه ایجاد

www.SID.ir

Archive of SID

و دو عدد پیچ عینك استریل در آن محکم پیچ کردیم و با استفاده از سیمان دندان‌پزشکی، کانول را روی جمجمه و پیچ‌ها محکم نمودیم. برای جلوگیری از ایجاد لخته و انسداد مجرای کانول، محلول هپارین ۵ u/ml و استرپتوکیناز ۲ u/ml به همراه نرمال سالین در داخل کانول پر کردیم [۳۵]. برای جلوگیری از عفونت، ۶ mg/kg جنتامایسین به همراه ۱۲۰ mg/kg سفازولین زیرجلدی تزریق نمودیم.

بعد از جراحی، موش‌ها دوره بهبودی ۵ روزه را طی کردند که در این مدت غذا و آب به صورت آزاد در اختیارشان بود. هر روز آنتی‌بیوتیك به مقدار ذکر شده فوق زیرجلدی تزریق شد. بعد از این مرحله موش‌ها در سه گروه متفاوت مطالعه شدند:

گروه سالین، گروه هروئین و گروه اسکوربات؛ این گروه به سه زیر گروه به ترتیب ذیل تقسیم شد:

a) گروه اسکوربات ۱۰۰ mg/kg

b) گروه اسکوربات ۳۰۰ mg/kg

c) گروه اسکوربات ۷۰۰ mg/kg

مقادیر ۱۰۰ و ۳۰۰ به عنوان حد بالا و پائین دوز متوسط و مقدار ۷۰۰mg/kg به عنوان دوز زیاد اسید اسکوربیك (شرکت مرك آلمان) انتخاب شد [۲۹].

در هر ۵ گروه، n=۱۰ در نظر گرفته شد. در گروه کنترل پس از دوره بهبودی، حیوان در قفس خودتزریقی قرار داده شد و در صورت فشار دادن پدال فعال ۰/۱ ml نرمال سالین از طریق کانول پشت سر دریافت کرد. علاوه بر آن لامپ قرمزرنگ روشن شده و یك عدد بسته غذایی به‌وسیله پمپ در اختیار حیوان قرار گرفت. این روند ۱۵ روز ادامه یافت که ۵ روز اول آن با ۱۲ ساعت گرسنگی و در ۱۰ روز باقی‌مانده بدون گرسنگی انجام شد. تمام اطلاعات حاصل از این ۱۵ روز به طور دقیق ثبت گردید [۳۵].

در گروه دوم یعنی گروه هروئین مانند گروه اول عمل شد، با این تفاوت که به جای نرمال سالین محلول هروئین هیدروکلراید (۰/۲۵ mg/ml) از شرکت (Sigma, USA) در اختیار حیوان قرار داده شد. ۵ روز اول با گرسنگی و ۱۰ روز دوم بدون گرسنگی آزمایش انجام شد. هر بار حیوان پدال فعال را فشار داد، ۰/۱ ml از محلول هروئین هیدروکلراید از طریق پمپی که به کانول پشت سر حیوان وصل شده بود دریافت کرد (۰/۰۲۵ mg/infusion). در پایان روز پانزدهم علایم سندرم محرومیت با تزریق ۲ mg/kg نالوکسان به صورت داخل‌صفاقی بررسی شد [۲۲،۲۷].

در گروه سوم یعنی گروه اسید اسکوربیك، ۳۰ دقیقه قبل از قرار گرفتن در قفس خودتزریقی، به ترتیب در گروه‌های c، b و a (زیرگروه‌های اسید اسکوربیك) مقدار ۱۰۰، ۳۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن اسید اسکوربیك به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد، سپس همانند گروه قبل آزمایش ادامه یافت و حیوان با هر بار فشاردادن روی پدال فعال، ۰/۲۵ mg هروئین هیدروکلراید دریافت کرد و روز پانزدهم با تزریق ۲ mg/kg نالوکسان به صورت داخل صفاقی، علایم سندرم محرومیت بررسی شد. طول مدت یك جلسه خودتزریقی برای هر موش در تمام گروه‌ها ۲ ساعت بود. اگر نتایج به‌دست آمده از یك حیوان بیش از ۱۵٪ از میانگین گروه مربوطه متفاوت بود، آن داده حذف و در آنالیز آماری وارد نشد [۳۵].

ج) تجزیه و تحلیل آماری. تعداد پدال‌های فعال و غیرفعال در تك‌تك گروه‌ها در طی روزهای آزمایش، از طریق آزمون ANOVA Repeated measures مقایسه شد [۸،۳۵]. تعداد پدال‌های فعال در تمام گروه‌های مورد آزمایش از طریق ANOVA یك‌طرفه مقایسه شد و در صورت معنی‌دار بودن تفاوت‌ها از طریق تست تعقیبی Tukey مطالعه گردید [۲۵،۳۵]. میانگین تعداد پدال فعال و غیرفعال در هر گروه از طریق آزمون t-student مطالعه گردید. بررسی علایم سندرم محرومیت پس از تزریق نالوکسان ۲ mg/kg.IP به‌وسیله آزمون ANOVA یك‌طرفه و در صورت وجود تفاوت معنی‌دار، از طریق تست تعقیبی Tukey مطالعه شد. در هر مورد $p<0.05$ معنی‌دار تلقی شد. نتایج به صورت Mean ± SEM نشان داده شده‌اند.

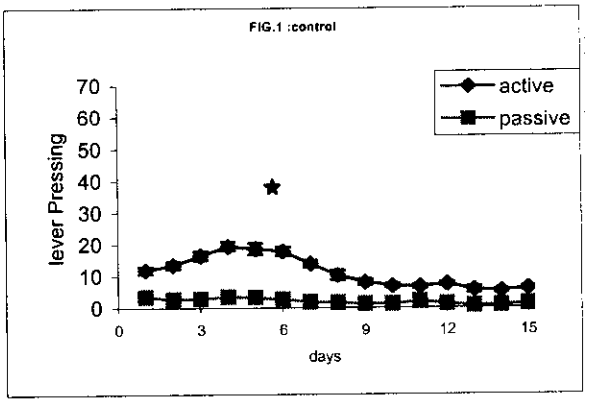
نتایج

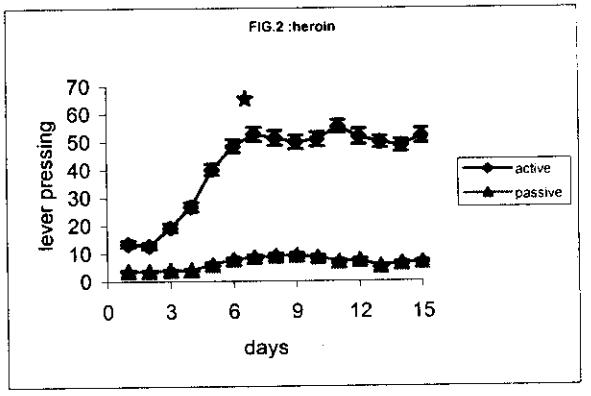
www.SID.ir

Archive of SID

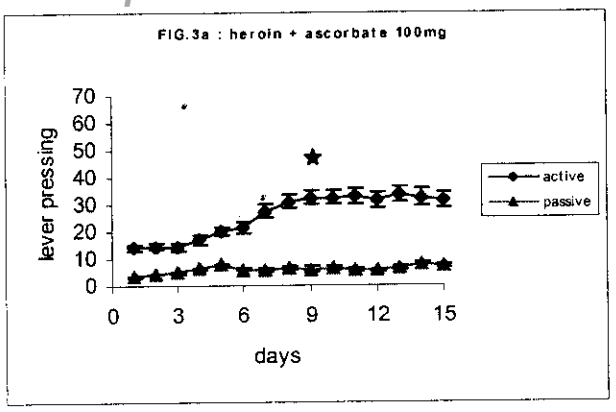
در این مطالعه موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در ۵ گروه کنترل، هروئین و اسیداسکوربیك (با سه زیرگروه) به روش خودتزریقی وریدی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تعداد پدال‌های زده شده در هر ۵ گروه در جدول ۱ نشان داده شده است.

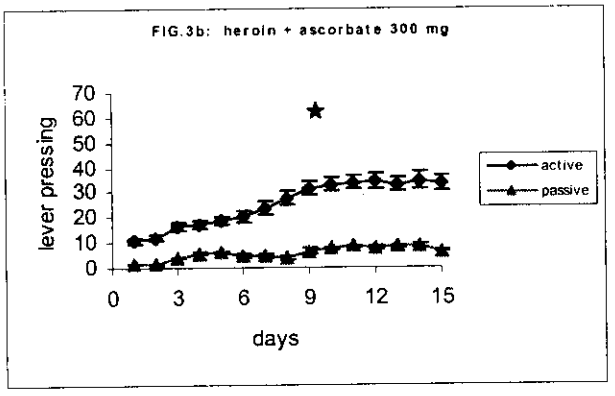
بررسی تعداد پدال‌های فعال و غیرفعال در هر گروه اختلاف معنی‌داری را در تمام گروه‌ها نشان داد که در نمودارهای ۱، ۲ و ۳ به‌ترتیب، مربوط به گروه کنترل، هروئین و اسید اسکوربیك نشان داده شده است ($p<0/01$).

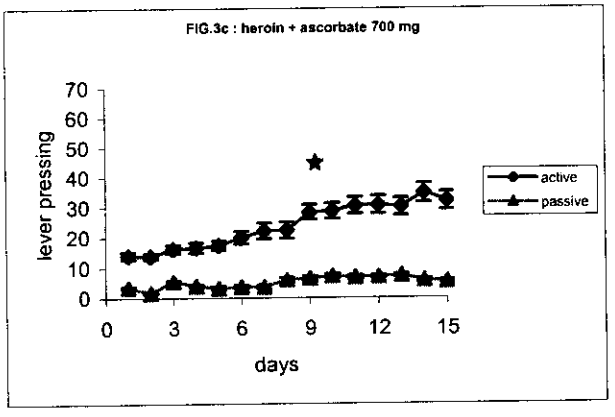




نمودار ۱ و ۲. مقایسه تعداد پدال‌های فعال وغیرفعال زده شده در گروه کنترل (نمودار۱) وگروه هروئین (نمودار۲). با فشار دادن پدال فعال در گروه کنترل 0.1ml سالین و درگروه دیگرهمین مقدار محلول هروئین 0.25mg/ml به حیوان تزریق می شد؛ ولی با فشار دادن پدال غیرفعال حیوان هیچ پاداشی را دریافت نمی‌کرد. در هر دو گروه بین تعداد پدال‌های فعال و غیرفعال زده شده اختلاف معنی‌دار وجود دارد. ($\bigstar p<0.01$)



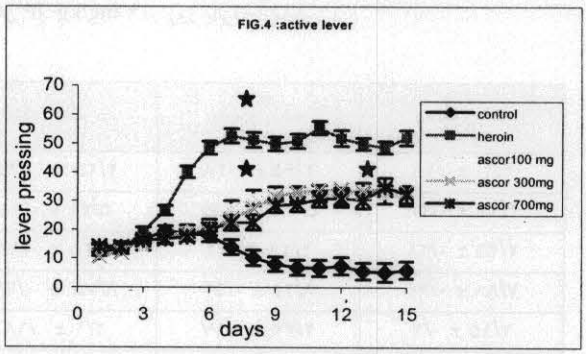




نمودار ۳ (a,b,c). مقایسه تعداد پدال‌های فعال و غیرفعال زده شده در زیرگروه‌های اسید اسکوربیك. با فشار دادن پدال فعال در هر سه گروه 0.1ml محلول هروئین (0.25mg/ml) به حیوان تزریق می‌شد ولی با فشار دادن پدال غیرفعال حیوان هیچ پاداشی را دریافت نمی‌کرد. ۳۰ دقیقه قبل از خودتزریقی مقادیر مختلف اسید اسکوربیك (100,300,700 mg/kg) به صورت داخل‌صفاقی به ترتیب در گروه (a,b,c) تزریق شد. در هرسه گروه بین تعداد پدال‌های فعال و غیرفعال زده شده اختلاف معنی‌دار وجود دارد. ($\bigstar p<0.01$)

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۴. مقایسه تعداد پدال‌های فعال زده شده در تمام گروه‌های مورد آزمایش. با فشاردادن پدال فعال در گروه کنترل 0.1ml سالین و در بقیه گروه‌ها همین مقدار محلول هروئین 0.25mg/ml به حیوان تزریق شد. در گروه‌های مختلف اسید اسکوربیک، حیوان ۳۰ دقیقه قبل از خودتزریقی مقادیر متفاوتی (100,300,700 mg/kg) اسید اسکوربیک به صورت داخل‌صفاقی دریافت کرد. تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل، هروئین و اسیداسکوربیک مشاهده شد ($p<0.01$ ★). تفاوت میان زیرگروه‌های مختلف اسید اسکوربیک معنی‌دار نبود.

مقایسه تعداد پداهای فعال در ۵ گروه مورد مطالعه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین هر پنج گروه وجود دارد ($p<0.01$). نمودار ۴ و جدول ۱ این موضوع را به‌وضوح نشان می‌دهد. همان‌طوری‌که از نمودار۴ قابل مشاهده است، تعداد پدال‌های فعال در گروه کنترل در پنج روز اول آزمایش به‌طور مختصر افزایش یافته و سپس دچار کاهش شده و این کاهش آهسته تا پایان روز پانزدهم ادامه داشته است، ولی در مورد گروه هروئین از روز دوم به بعد افزایش در تعداد پدال‌های فعال، مشاهده می‌شود که از متوسط ۱۲/۶ پدال در روز اول به متوسط ۵۰ پدال در روز نهم و دهم رسیده است. در این گروه افزایش تعداد پدال‌ها از روز سوم تا ششم شدیدتر بوده و سپس به یک کفه رسیده است و به‌نظر می‌رسد که در روز هشتم وابستگی به هروئین، کامل شده است.

جدول ۱. میانگین تعداد پدال‌های زده شده در گروه‌های مختلف در طی ۱۵ روز آزمایش خودتزریقی وریدی.

گروه‌ها	تعداد پدال فعال	تعداد پدال غیرفعال	P-value
کنترل	۱۱/۱۳ ± ۰/۶۲	۱/۹۷ ± ۰/۱۸	۰/۰۱
هروئین	۴۱/ ۴۸ ± ۱/۸۲	۶/۴۸ ± ۰/۳۹	۰/۰۱
اسکوربات a	۲۵/۶۸ ± ۱/۰۷	۶/۰۳ ± ۰/۳۴	۰/۰۱
اسکوربات b	۲۵/۲۴ ± ۱/۰۵	۵/۶۵ ± ۰/۳۵	۰/۰۱
اسکوربات c	۲۳/۸۹ ± ۰/۹۴	۵/۱۱ ± ۰/۳۱	۰/۰۱

تفاوت بین تعداد پدال فعال و غیرفعال در تمام گروه‌ها معنی‌دار است.

نتایج مربوط به تزریق نالوکسان. در تمام گروه‌های مورد آزمایش در پایان روز پانزدهم، مقدار ۲ mg/kg نالوکسان به‌صورت داخل‌صفاقی تزریق شد و به مدت یک ساعت حیوان در داخل محفظه شیشه‌ای روباز قرار داده شده و از نظر بروز علایم سندرم قطع دارو (Withdrawal syndrome) مورد بررسی قرار گرفت. محفظه شیشه‌ای مذکور با ابعاد ۶۰×۶۰×۶۰ سانتی‌متر به همین منظور ساخته شد و از هر طرف آن حیوان موجود در داخل محفظه به وضوح قابل مشاهده بود. به تک‌تک حیوانات، در تمام گروه‌های آزمایشی نالوکسان به مقدار ذکر شده فوق تزریق شد و مشاهده دقیق حیوان تا یک ساعت پس از تزریق ادامه یافت؛ که نتایج آن در جدول ۲ نشان داده شده است. اطلاعات به‌دست آمده ناشی از تزریق نالوکسان از طریق آزمون ANOVA یک‌طرفه مقایسه شد و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار از طریق آزمون تعقیبی Tukey دنبال شد. لازم به ذکر است که در مورد دو متغیر سیخ‌شدن موها و اسهال که اطلاعات، کمّی نبود اختلاف بین گروه‌ها همان‌طوری که در جدول ۲ آمده است، بسیار واضح و روشن بود. به عبارت دیگر در گروه کنترل اسهال و سیخ‌شدن موها وجود نداشت ولی در مورد گروه هروئین، درجه هر دو متغیر شدید بود و بالاخره در زیرگروه‌های اسید اسکوربیک درجه اسهال متوسط و درجه سیخ‌شدن موها ضعیف بود.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. بررسی سندرم قطع دارو با تزریق نالوکسان IP. mg/kg ۲ در روز پانزده آزمایش.

علایم سندرم محرومیت	گروه کنترل	گروه هروئین	اسکوربات a	bاسکوربات	cاسکوربات
دفعات کشش بدن	۱/۹۵ ±۰/۱۸	۱۰/۱۲ ± ۰/۹	۳/۲۵ ± ۰/۲۵	۲/۶۵ ± ۰/۲۸	۲/۲ ±۰/۱۸
پرش به طرف بالا	۲/۳۳ ±۰/۲۱	۱۵/۶۵ ± ۱/۲	۵/۴۶ ± ۰/۴۵	۵/۴۸ ± ۰/۵۵	۴/۲۳ ± ۰/۳۸
دفعات تکان دادن بدن	۰/۷۵ ± ۰/۰۸	۶/۱۴ ± ۰/۶۲	۲/۲۵ ± ۰/۱۸	۲/۲۸ ± ۰/۲	۲/۴۵ ± ۰/۲۱
روی دو پا ایستادن	۴/۲۱ ±۰/۵۴	۲۰/۱۸ ± ۱/۸۵	۸/۷۵ ± ۰/۷۶	۸/۲۵ ± ۰/۵۴	۷/۸۸ ± ۰/۶۴
خمیازه	۰/۲۵ ± ۰/۰۲	۱۶/۲۵ ± ۱/۷	۲/۱ ± ۰/۱۸	۲/۳۳ ± ۰/۱۷	۲/۱۵ ± ۰/۲
مالیدن پوزه با دست	۴/۱۵ ± ۰/۵۶	۳۱/۲ ± ۲/۱۸	۱۰/۴۴ ± ۱/۱۲	۱۱/۶۴ ± ۰/۹	۱۱/۲۵ ± ۱/۱۶
سیخ شدن موها	نداشت	شدید	ضعیف	ضعیف	ضعیف
اسهال	نداشت	شدید	متوسط	متوسط	متوسط

بعد از تزریق نالوکسان، حیوانات گروه هروئین علائم شدید سندرم محرومیت را نشان دادند؛ ولی در گروه کنترل علائم سندرم محرومیت دیده نشد. در زیرگروه‌های اسید اسکوربیك شدت علائم مابین گروه کنترل و گروه هروئین بود. مقایسه گروه‌های مختلف (ANOVA و Tukey) تفاوت معنی‌داری را بین گروه کنترل، هروئین و اسید اسکوربیك نشان داد ($P<0/02$)، ولی تفاوت بین زیرگروه‌های اسید اسکوربیك معنی‌دار نبود.

بحث

نتایج مهم این مطالعه عبارتند از:

– در تمام گروه‌های مورد مطالعه، تعداد پدال فعال زده شده از تعداد پدال غیرفعال بیش‌تر بود.

– تعداد پدال فعال در گروه هروئین بطور محسوسی از گروه کنترل و گروه اسید اسکوربیك بیشتر بود.

– تعداد پدال فعال فشرده شده در گروه اسید اسکوربیك با گروه کنترل و هروئین تفاوت معنی‌داری داشت ولی تفاوت بین زیرگروه‌های اسید اسکوربیك معنی‌دار نبود.

– شدت علایم ترك در زیرگروه‌های اسید اسکوربیك به‌طور معنی‌داری ملایم‌تر از گروه هروئین بود، ولی بین زیرگروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

مهم‌ترین هدف مطالعه حاضر این بوده که معلوم کند، آیا اسید اسکوربیك قادر است وابستگی به هروئین را مهار کرده و یا به تأخیر بیاندازد؟ و آیا تفاوتی بین دوزهای مختلف اسید اسکوربیك در این مورد وجود دارد؟ بر این اساس پدیده ایجاد وابستگی به هروئین با استفاده از تکنیك خودتزریقی وریدی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از آنالیز داده‌های به‌دست آمده در گروه‌های کنترل، هروئین، اسید اسکوربیك (نمودار ۴) نشان می‌دهند که تفاوت معنی‌داری بین تعداد فشرده شدن پدال فعال گروه‌های مختلف وجود دارد که به نوعی بیان‌گر اثر اسید اسکوربیك در روند ایجاد اعتیاد می‌باشد. در تمام گروه‌ها اختلاف معنی‌داری بین پدال فعال و غیرفعال دیده شد (نمودار ۲،۱ و ۳) که بیان‌گر وجود انگیزه (پاداش) در فشردن پدال فعال می‌باشد. در مورد گروه کنترل، این پاداش دریافت بسته‌های غذایی و در گروه هروئین و اسید اسکوربیك انگیزه لازم برای فشردن پدال فعال دریافت هروئین بوده که میانگین تعداد پدال‌ها گویای این مسأله است که خاصیت تشویقی هروئین از غذا قوی‌تر است؛ به‌طوری که تعداد پدال‌های فشرده شده در گروه هروئین از گروه کنترل بسیار بیشتر است. بررسی روز به روز تعداد فشرده شدن پدال‌ها (ANOVA repeated mesure) در گروه کنترل افزایش مختصری را در طی ۵ روز اول آزمایش نشان می‌دهد که بعد از روز ششم به تدریج کاهش می‌یابد. همان‌طوری‌که در نمودار ۱ نشان داده شده است، میانگین تعداد پدال‌های فعال زده شده در این گروه از ۱۱/۸ در روز اول به ۱۹/۴ در روز چهارم و پنجم رسیده و سپس طی کاهش تدریجی به ۶ پدال در روز پانزدهم ختم می‌شود. از آن‌جا که بعد از روز پنجم، آزمایش بدون گرسنگی بوده حیوان در گروه کنترل انگیزه لازم برای زدن پدال فعال را نشان نداده است.

بررسی روز به روز تعداد فشرده شدن پدال‌ها در گروه هروئین (نمودار ۲ و ۴) نشان می‌دهد که تعداد پدال‌های فعال در ۲ روز اول آزمایش تقریباً برابر گروه کنترل بوده ولی از روز سوم

www.SID.ir

Archive of SID

به بعد تعداد پدال‌ها افزایش یافته و هر روز نسبت به روز قبل زیادتر شده و در طی روزهای نهم تا پانزدهم افزایش نشان نداده است. روشن است که بعد از روز سوم رفتار حیوان تغییر یافته و در طی روزهای آینده تمایل بیش‌تری به فشردن پدال فعال نشان داده است. با توجه به این‌که با فشردن پدال فعال محلول هروئین (۰/۰۲۵ mg/infusion) به حیوان تزریق شده است، پس موش‌ها برای رسیدن به هروئین مورد نیاز به زدن پدال فعال مبادرت کرده‌اند. بنابراین به نظر می‌رسد که روند وابستگی به هروئین از روز دوم خود را نشان داده و روز هشتم تثبیت شده است. بدیهی است که انگیزه زدن پدال فعال در گروه هروئین، دریافت هروئین بوده است.

بررسی تعداد فشردن پدال فعال در زیرگروه‌های مختلف اسید اسکوربیك (نمودار ۳) الگوی متفاوتی را نشان می‌دهد. در این گروه، تعداد پدال‌ها تا روز پنجم تقریباً برابر با گروه کنترل ادامه یافته و از روز ششم به تدریج افزایش یافته و با شیب ملایم تا حدود روز نهم ادامه داشته و سپس به یك کفه رسیده است. روشن است که اسید اسکوربیك الگوی گرفتن مواد مخدر و هم‌چنین روند ایجاد وابستگی را کاملاً تغییر داده است، به‌طوری‌که تمایل به هروئین از روز ششم شروع شده و در روزهای بعدی به آرامی افزایش یافته است و در نهایت نیز به وابستگی کامل نرسیده است.

بررسی علایم سندرم محرومیت در گروه‌های مختلف مورد آزمایش مطابق جدول ۲ نشان می‌دهد که شدت این علایم در گروه‌های مختلف اسید اسکوربیك حدواسط بین گروه کنترل و گروه هروئین (معتاد) است. به عبارت دیگر شدت علایم در گروه‌های مختلف اسید اسکوربیك خفیف‌تر از گروه معتاد و بسیار نزدیك به حالت نرمال و یا گروه کنترل می‌باشد. این موضوع بیان‌گر نکته مهمی است، به این معنی که در گروه‌های مختلف اسید اسکوربیك وابستگی فیزیکی به هروئین اتفاق نیافتاده است. با توجه به این‌که محلول هروئین با شرایط یك‌سان در اختیار این حیوانات بوده ولی حیوانات گروه اسید اسکوربیك معتاد نشده‌اند. هم به لحاظ مقایسه تعداد پدال‌های فعال زده شده به منظور کسب هروئین (جدول ۱) و هم به لحاظ بررسی شدت علایم سندرم محرومیت پس از تزریق نالوکسان (جدول ۲)، می‌توان گفت که اسید اسکوربیك مانع ایجاد وابستگی به هروئین شده و یا حداقل آن را تضعیف کرده است. این شواهد با نتایج سایر محققین سازگار می‌باشد. در سال ۲۰۰۰ در یك مطالعه بالینی روی انسان‌های معتاد به هروئین، اسید اسکوربیك باعث تضعیف علایم سندرم محرومیت شد [۸].

از آن‌جا که اسید اسکوربیك در محیط کشت سلولی قادر است گیرنده‌های اپیوئیدی را تخریب کند، احتمال چنین عملی به‌صورت In vivo هم وجود دارد [۲۲،۳۲]. احتمالاً اسید اسکوربیك با تخریب یا مختل کردن گیرنده‌های اپیوئیدی نوع Mu و delta باعث کاهش اثرات تشویقی هروئین شده است. چون که این گیرنده‌ها باعث افزایش ترشح دوپامین در هسته اکومبنس شده و نقش زیادی در سیستم تشویق و تقویت دارند [۱۵،۱۶،۲۷]. از طرفی دوپامین و اسید گلوتامیك مترشحه در هسته اکومبنس و هسته پاراژیگانتوسلولاریس در ایجاد وابستگی به مواد مخدر و هم‌چنین بروز سندرم محرومیت نقش اساسی دارند [۸،۱۲،۱۹،۲۱]. هم‌چنین مشخص شده که اسید اسکوربیك از انتهای نرون‌های گلوتامینرژیك مغز آزاد می‌شود و سیستم‌های گلوتامینرژیك و دوپامینرژیك میزان آزاد شدن آن‌را تنظیم می‌کند و این دو سیستم به نوبه خود به‌وسیله اسید اسکوربیك تنظیم می‌شود [۲۸،۲۹]. بنابراین با توجه به مطالب بالا می‌توان نتیجه گرفت که اسید اسکوربیك با دخالت در سیستم‌های یاد شده، ایجاد وابستگی به هروئین را مختل کرده و یا به تأخیر انداخته است.

مطالعات زیادی براساس دوزهای مختلف به اثرات متفاوت و حتی متضاد اسید اسکوربیك هم به‌صورت in vivo و هم به‌صورت in vitro اشاره کرده‌اند [۲۸،۲۹]. بر همین اساس در این مطالعه، اثرات سه دوز مختلف اسید اسکوربیك بر روی وابستگی به هروئین و علایم سندرم محرومیت بررسی شد.

مقایسه نتایج به‌دست آمده در زیرگروه‌های مختلف اسید اسکوربیك نشان داد که تفاوت بین این گروه‌ها با هم‌دیگر معنی‌دار نیست؛ یعنی این‌که حداقل در مقیاس این مطالعه دوزهای ۱۰۰، ۳۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در

www.SID.ir

Archive of SID

جلوگیری از ایجاد وابستگی به هروئین یک‌سان عمل کرده‌اند. این نتایج با نتایج محققین دیگر سازگار نیست. در مورد مقایسه اثر دوزهای مختلف اسید اسکوربیک در جلوگیری از ایجاد وابستگی به مواد مخدر، پژوهش انجام شده توسط سایر محققین پیدا نشد. ولی مطالعات انجام شده روی اثرات نرومدولاتوری اسید اسکوربیک تقریباً همیشه با دوزهای زیاد آن صورت گرفته است. در مورد تداخل اسید اسکوربیک با سیستم‌های گلوتامینرژیک و دوپامینرژیک و فعالیت‌های حرکتی استریاتوم همیشه دوزهای بالای mg/kg ۳۰۰ اسکوربات مورد استفاده قرار گرفته است. عقیده بر این است که دوزهای پائین اسید اسکوربیک به سختی وارد مغز می‌شوند و بیش‌تر، اثرات محیطی بر جای می‌گذارند [۲۸،۲۹]. تحقیقات نشان داده‌اند که پیش‌درمانی با اسکوربات (500-2000 mg/kg) از بروز رفتارهای ایجاد شده به‌وسیله آمفتامین در موش جلوگیری می‌کند. مطالعات دیگری نشان دادند که پیش‌درمانی با اسکوربات، رفتارهای ایجاد شده به‌وسیله هالوپریدل را تشدید می‌کند؛ مثلاً تزریق داخل‌صفاقی mg/kg ۱۰۰۰ اسکوربات، توانایی هالوپریدل در بلوکه کردن رفتارهای ایجاد شده به‌وسیله آمفتامین را تشدید کرد [۲۸،۲۹]. پیچیدگی این موضوع زمانی بیش‌تر شد که اثرات متضاد، با دوزهای پائین اسکوربات گزارش شد. تزریق سیستمیک mg/kg ۲۰۰-۵۰۰ اسکوربات در موش صحرایی باعث تشدید رفتارهای ایجاد شده به‌وسیله آمفتامین می‌شود، درحالی‌که کاتالپسی ایجاد شده توسط هالوپریدل را تضعیف می‌کند [۲۸]. بنابراین به نظر می‌رسد که اثرات اسکوربات شدیداً وابسته به دوز بوده، به‌طوری‌که دوزهای کم باعث افزایش و دوزهای بالا باعث تضعیف رفتارهای وابسته به دوپامین می‌شود. دلایل تفاوت موجود در نتایج مطالعه ما با پژوهش‌های دیگر در این مورد کاملاً روشن نیست، ولی یک مسأله محتمل است؛ در تمام مطالعات ذکر شده توسط دیگرمحققین، ناحیه نئواستریاتوم مغزی و رفتارهای حرکتی آن هدف اصلی بررسی بوده، ولی در مطالعه ما سیستم پاداش مغزی به‌خصوص ناحیه تگمنتوم شکمی و گرایش به هروئین هدف اصلی بررسی بود. از آن‌جا که تفاوت زیادی از نظر مدار نرونی و میانجی‌های موجود در آن، بین این دو ناحیه مغزی وجود دارد [۲۸،۲۹]، این احتمال وجود دارد که اثرات اسید اسکوربیک در این دو ناحیه کاملاً یک‌سان نباشد.

از سوی دیگر، شواهدی در دست است که اسید اسکوربیک در فعالیت‌های حرکتی تداخل می‌کند. تخریب یک‌طرفه مسیر نیگرواستریاتال در موش صحرایی و سپس تزریق آمفتامین باعث چرخش یک‌طرفه حیوان می‌شود که اسکوربات از آن جلوگیری می‌کند [۲۹]. اسکوربات باعث اختلال وظیفه پاسخ دوری‌گزینی فعالانه در شاتل Box می‌شود، که این وظیفه حساسیت زیادی نسبت به تغییر انتقال دوپامینرژیک دارد [۲۸،۲۹]. مطالعات اولیه حاصل از ثبت Single unit نشان داد که با تزریق اسید اسکوربیک (۱۰۰۰mg/kg)، فعالیت نرون‌های استریاتوم تا ۵ برابر افزایش می‌یابد. استفاده توأم اسید اسکوربیک و گلوتامات از طریق آیونتوفورزیس به داخل استریاتوم فعالیت نرون‌ها را بیش از اسید اسکوربیک تنها افزایش داد [۲۹]. به‌علاوه به نظر می‌رسد افزایش انتقال گلوتامات روی خروجی حرکتی اثر مهاری داشته باشد. زیرا تزریق داخل‌بطنی گلوتامات در حیوان گرسنه، پاسخ حیوان برای دریافت غذا را تضعیف کرد. از طرف دیگر تزریق MK-801 به‌عنوان آنتاگونیست غیررقابتی گیرنده NMDA باعث شروع بسیار قوی فعالیت‌های رفتاری نظیر: هیپرلوکوموشن، بو کشیدن شدید، حرکات موجی سر، آتاکسی پای خلفی و پاسخ شدید به محرک‌های لمسی و صوتی می‌شود. کاهش انتقال گلوتاماتی به نظر می‌رسد که فعالیت دوپامینرژیک را زیاد می‌کند و برعکس [۱۹،۲۰،۲۸،۲۹]. بنابراین احتمال دارد که کاهش تعداد فشرده شدن پدال‌ها ناشی از اختلال در سیستم حرکتی باشد که اسید اسکوربیک با مکانیسم ذکر شده ایجاد کرده است؛ یعنی اسید اسکوربیک به تنهایی و یا با افزایش گلوتامات در نئواستریاتوم (کم کردن بازجذب گلوتامات) اثر مهاری روی خروجی حرکتی عقده‌های قاعده‌ای گذاشته و باعث کاهش فعالیت‌های حرکتی نظیر زدن پدال در سیستم خودتزریقی و هم‌چنین کاهش حرکات بالا پریدن، کشش بدن، روی دو پا ایستادن و غیره در هنگام تزریق نالوکسان شده است (تضعیف علایم سندرم محرومیت). صرف‌نظر از مکانیسم دقیق کاهش تمایل به هروئین و تضعیف

www.SID.ir

Archive of SID

علایم سندرم محرومیت، نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج حاصل از پژوهش‌های دیگر هم‌خوانی دارد.

به‌طور کلی این‌طور نتیجه‌گیری می‌شود که با مطالعه بیش‌تر و دقیق‌تر، احتمالاً اسید اسکوربیک می‌تواند داروی مناسب برای جلوگیری از ایجاد وابستگی به مواد مخدر بوده و هم‌چنین داروی مطمئن برای درمان ترک اعتیاد باشد.

منابع

[1] Alderson HL, Robbins TW, Everitt BJ. Heroin self-administration under a second-order schedule of reinforcement: acquisition and maintenance of heroin-seeking behaviour in rats. Psychopharmacology (Berl), 2000 Dec; 153(1): 120-33.

[2] Bassareo V, Tanda G, Di Chiara G. Increase of extracellular dopamine in the medial prefrontal cortex during spontaneous and naloxone-precipitated opiate abstinence. Psychopharmacology (Berl), 1995 Nov; 122(2): 202-5.

[3] Brodie MS, Dunwiddie TV. Cocaine effects in the ventral tegmental area: evidence for an indirect dopaminergic mechanism of action. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 1990 Dec; 342(6): 660-5.

[4] Carlson KR, Seeger TF. Interaction of opiates with dopamine receptors: receptor binding and behavioral assays. Pharmacol Biochem Behav, 1982 Jan; 16(1): 119-24.

[5] Cheer JF, Marsden CA, Kendall DA, Mason R. Lack of response suppression follows repeated ventral tegmental cannabinoid administration: an in vitro electrophysiological study. Neuroscience, 2000; 99(4): 661-7.

[6] Chen NH, Reith ME. Effects of locally applied cocaine, lidocaine, and various uptake blockers on monoamine transmission in the ventral tegmental area of freely moving rats: a microdialysis study on monoamine interrelationships. J Neurochem, 1994 Nov; 63(5): 1701-13.

[7] Devine DP, Wise RA. Self-administration of morphine, DAMGO, and DPDPE into the ventral tegmental area of rats. J Neurosci, 1994 Apr; 14(4): 1978-84.

[8] Evangelou A, Kalfakakou V, Georgakas P, Koutras V, Vezyraki P, Iliopoulou L, et al. Ascorbic acid (vitamin C) effects on withdrawal syndrome of heroin abusers. In Vivo, 2000 Mar-Apr; 14(2): 363-6.

[9] Xi ZX, Fuller SA, Stein EA. Dopamine release in the nucleus accumbens during heroin self-administration is modulated by kappa opioid receptors: an in vivo fast-cyclic voltammetry study. J Pharmacol Exp Ther, 1998 Jan; 284(1): 151-61.

[10] Gerrits MA, Van Ree JM. Effect of nucleus accumbens dopamine depletion on motivational aspects involved in initiation of cocaine and heroin self-administration in rats. Brain Res, 1996 Mar 25; 713(1-2): 114-24.

[11] Gold MS. Is there a treatment for drug abuse or addiction? Contempt Psychol, 1993; 38: 1119-1123.

[12] Gold MS, Miller NS. Seeking drugs/alcohol and avoiding withdrawal: The neuroanatomy of drive states and withdrawal. Psychiatric Annals, 1992; 22: 430-435.

[13] Grant SJ, Sonti G. Buprenorphine and morphine produce equivalent increases in extracellular single unit activity of dopamine neurons in the ventral tegmental area in vivo. Synapse, 1994 Mar; 16(3): 181-7.

[14] Gerrits MA, Ramsey NF, Wolterink G, van Ree JM. Lack of evidence for an involvement of nucleus accumbens dopamine D1 receptors in the initiation of heroin self-administration in the rat. Psychopharmacology (Berl), 1994 Apr; 114(3): 486-94.

[15] Hakan RL, Henriksen SJ. Opiate influences on nucleus accumbens neuronal electrophysiology: dopamine and non-dopamine mechanisms. J Neurosci, 1989 Oct; 9(10): 3538-46.

[16] Herz A. Opioid reward mechanisms: a key role in drug abuse? Can J Physiol Pharmacol, 1998 Mar; 76(3): 252-8.

[17] Johnson SW, North RA. Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons. J Neurosci, 1992 Feb; 12(2): 483-8.

[18] Kiyatkin EA, Wise RA, Gratton A. Drug- and behavior-associated changes in dopamine-related electrochemical signals during intravenous heroin self-administration in rats. Synapse. 1993 May; 14(1): 60-72.

[19] Koob GF, Bloom FE. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. Science, 1988 Nov 4; 242(4879): 715-23.

[20] Koob GF, Goeders NE. Neuroanatomical substrates of drug self-administration: Neuropharmacological basis of reward. In: Liebman JM, Cooper SJ editors Oxford Reviews in Psychopharmacology. 1: Neuropharmacological Basis of Reward. London: Oxford University Press, 1989. p.214-263.

[21] Manning BH, Morgan MJ, Franklin KB. Morphine analgesia in the formalin test: evidence for forebrain and midbrain sites of action. Neuroscience, 1994 Nov; 63(1): 289-94.

[22] Marinelli M, Aouizerate B, Barrot M, Le Moal M, Piazza PV. Dopamine-dependent responses to morphine depend on glucocorticoid receptors. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998 Jun 23; 95(13): 7742-7.

[23] Markou A, Weiss F, Gold LH, Caine SB, Schulteis G, Koob GF. Animal models of drug craving. Psychopharmacology (Berl), 1993; 112(2-3): 163-82.

[24] Nestby P, Vanderschuren LJ, De Vries TJ, Hogenboom F, Wardeh G, Mulder AH, et al. Ethanol, like psychostimulants and morphine, causes long-lasting hyperreactivity of dopamine and acetylcholine neurons of rat nucleus accumbens: possible role in behavioural sensitization. Psychopharmacology (Berl), 1997 Sep; 133(1): 69-76.

[25] Nestler EJ, Hope BT, Widnell KL. Drug addiction: a model for the molecular basis of neural plasticity. Neuron, 1993 Dec; 11(6): 995-1006.

[26] Ostrowski NL, Pert A. Substantia nigra opiate receptors on basal ganglia efferents. Brain Res Bull, 1995; 38(6): 513-23.

[27] Piepponen TP, Ahtee L. Effects of selective opioid receptor antagonists on morphine-induced changes in striatal and limbic dopamine metabolism. Pharmacol Toxicol, 1995 Sep; 77(3): 204-8.

[28] Pierce RC, Rowlett JK, Rebec GV, Bardo MT. Ascorbate potentiates amphetamine-induced conditioned place preference and forebrain dopamine release in rats. Brain Res, 1995 Aug 7; 688(1-2): 21-6.

[29] Rebec GV, Pierce RC. A vitamin as neuromodulator: ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulates dopaminergic and glutamatergic transmission. Prog Neurobiol, 1994 Aug; 43(6): 537-65.

[30] Roberts DCS, Goeders N. Drug self-administration: experimental methods and determinants. In: Boulton AA, Baker GB, Greenshaw AJ (editors). Neuromethods, 13th ed. Clifton: Humana Press, 1989. p. 349–398.

[31] Smart D, Lambert DG. The stimulatory effects of opioids and their possible role in the development of tolerance. Trends Pharmacol Sci, 1996 Jul; 17(7): 264-9.

[32] Sepulveda MJ, Hernandez L, Rada P, Tucci S, Contreras E. Effect of precipitated withdrawal on extracellular glutamate and aspartate in the nucleus accumbens of chronically morphine-treated rats: an in vivo microdialysis study. Pharmacol Biochem Behav, 1998 May; 60(1): 255-62.

[33] Suaudeau C, Costentin J. Analgesic effect of the direct D2 dopamine receptor agonist RU 24926 and cross tolerance with morphine. Fundam Clin Pharmacol, 1995; 9(2): 147-52.

[34] Tanda G, Di Chiara G. A dopamine-mu1 opioid link in the rat ventral tegmentum shared by palatable food (Fonzies) and non-psychostimulant drugs of abuse. Eur J Neurosci, 1998 Mar; 10(3): 1179-87.

[35] Martin TJ, Smith JE, Dworkin SI. Training dose and session time as contextual determinants of heroin self-administration in rats. Pharmacol Biochem Behav, 1998 Jun; 60(2): 415-21.

[36] Verma A, Kulkarni SK. Role of D1/D2 dopamine and N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors in morphine tolerance and dependence in mice. Eur Neuropsychopharmacol, 1995 Jun; 5(2): 81-7.

[37] Wiesenfeld-Hallin Z. Combined opioid-NMDA antagonist therapies. What advantages do they offer for the control of pain syndromes? Drugs, 1998 Jan; 55(1): 1-4.

www.SID.ir