

بررسی اثر اسید آسکوربیک بر کسب و پایداری ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین در موش کوچک آزمایشگاهی ماده

هدایت صحرائی^۱، علی نصیری^۱، ابوالفضل دست‌آموز^۲، لילה حسین‌مردی^۳، مریم یاری^۳، حسن قشونی^۱، حمیرا زردوز^۲

- ۱- دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک
- ۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شمال تهران، بخش زیست‌شناسی
- ۳- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

چکیده

افزایش فعالیت مسیر دوپامینرژیک مزولیمبیک در ناحیه تگمنتوم شکمی (Ventral Tegmenta Area-VTA) توسط مرفین منجر به ایجاد وابستگی روانی می‌گردد. عملکرد گیرنده‌های دوپامینی می‌تواند تحت اثر اسید آسکوربیک قرار گیرد. همچنین این ماده سبب کاهش عوارض سندرم ترک در موش‌های معتاد شده و ایجاد تحمل به مرفین را به تأخیر می‌اندازد. در این مطالعه نقش احتمالی اسید آسکوربیک در کسب و پایداری پدیده ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین در موش کوچک آزمایشگاهی ماده مورد بررسی قرار گرفت.

موش‌های سوری از نژاد سوئیس - وبستر به وزن ۲۵-۲۰ گرم در این آزمایشات مورد استفاده قرار گرفتند و ترجیح مکان شرطی شده به روش Biased در حیوانات القاء شد. آزمایش‌های انجام شده نشان داد که مرفین (۱-۱۰ mg/kg) به صورت زیرجلدی) توانست ترجیح مکان شرطی شده وابسته به دوز ایجاد کند. دوزهای مختلف اسید آسکوربیک (۱-۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) توانست اثر مرفین را به صورت غیر وابسته به مقدار تغییر دهد. تجویز مزمن اسید آسکوربیک (۱-۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نیز توانست اثر مرفین را به صورت غیر وابسته به مقدار تغییر دهد. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که اثرات پاداشی مرفین می‌تواند به شدت تحت تأثیر اسید آسکوربیک قرار گیرد اما احتمالاً این ویتامین از طریق یک مکانیسم واحد عمل نمی‌کند.

واژه‌های کلیدی: مرفین، اسید آسکوربیک، ترجیح مکان شرطی شده، موش کوچک آزمایشگاهی.

مقدمه

اسید آسکوربیک می‌تواند فعالیت دوپامینی را در مغز تعدیل نماید. مطالعات بر نقش اسید آسکوربیک در کاهش تمایل آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های دستگاه دوپامینی به گیرنده‌های آنها دلالت داشته‌اند [۱۵]. اسید آسکوربیک یکی از ویتامین‌های محلول در آب است که در مغز

تجویز حاد و مزمن مرفین می‌تواند سبب افزایش چرخه دوپامین و میزان رها شدن این نوروترانسمیتر از پایانه‌های دوپامینرژیک گردد [۲]. افزایش فعالیت دوپامین در نواحی لیمبیک مغز سبب افزایش حرکت و نیز ایجاد وابستگی می‌گردد [۵]. شواهد تحقیقاتی نشان می‌دهند که

Archive of SID

اسید آسکوربیک بر ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین که یکی از روش‌های مدل کردن وابستگی دارویی در حیوانات است [۱] را مورد مطالعه قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این تحقیق، از موش‌های کوچک آزمایشگاهی (موش‌های سوری) ماده، نژاد Swiss-Webster (که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده بودند) با میانگین وزن ۲۵-۲۰ گرم استفاده شد. حیوانات در گروه‌های ۵ تایی نگهداری شده و از آب و غذای مخصوص (پلت) بجز در زمان آزمایش برخوردار بودند. حیوانات در دوره روشنایی - تاریکی طبیعی و در دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد نگهداری می‌شدند. هر حیوان تنها یک بار مورد استفاده قرار می‌گرفت.

داروها: سولفات مرفین (تهیه شده از شرکت تماد ایران) و اسید آسکوربیک (تهیه شده از شرکت داروپخش ایران) در این آزمایشات به کار رفتند. داروها در نرمال سالین حل می‌شد و به صورت داخل صفاقی یا زیرجلدی و به حجم ۱۰ ml/kg به حیوانات تزریق می‌شد. داروها به صورت روزانه تهیه می‌شدند.

روش کار: برای انجام آزمایش ترجیح مکان شرطی شده (CPP) از دستگاه چوبی مخصوصی استفاده شد که از دو قسمت (Compartment) مجزا تشکیل شده که توسط یک دریچه گیوتینی با هم ارتباط پیدا می‌کنند. این دو قسمت دارای ابعاد مساوی ۱۵×۱۵×۱۵ (ارتفاع، طول، عرض) سانتی‌متر می‌باشند. دیواره‌ها و کف یکی از قسمت‌ها سفید رنگ و دیواره‌ها و کف قسمت دیگر سیاه رنگ می‌باشد [۸]. جهت مطالعه هر روز از داروهای مورد نظر، یک گروه موش (n=۸) انتخاب می‌شدند. آنگاه طی یک دوره ۵ روزه مراحل زیر انجام شد:

پستانداران غلظت‌های بالایی از آن به ویژه در عقده‌های قاعده‌ای یافت می‌شود [۱۵]. اسید آسکوربیک در مغز ساخته نمی‌شود و توسط مکانیسم‌های انتقال فعال و انتشار در شبکه کورویید جذب می‌شود [۹، ۱۳].

تحقیقات مختلف نقشی را برای اسید آسکوربیک در درمان نشانه‌های ترک در انسان و حیوانات وابسته به مرفین بیان می‌کنند. به عنوان مثال، مقادیر بالای این ویتامین در درمان عوارض ترک اعتیاد در معتادان کاربرد دارد [۱۰، ۴]. اسید آسکوربیک از بروز تحمل به مرفین و نیز از ایجاد وابستگی فیزیکی به مرفین جلوگیری می‌کند [۷]. گزارشی هم در مورد کاهش چشمگیر بی‌قراری و سایر عوارض ناشی از تجویز نالوکسان در خوکه‌های وابسته به مرفین توسط اسید آسکوربیک وجود دارد [۶].

افزایش اکسیداسیون اسید آسکوربیک در استریاتوم و دستگاه لیمبیک در اثر مصرف مرفین دیده شده است و همین مسئله به عنوان علت اصلی کاهش ایجاد تحمل و وابستگی به مرفین در موش‌های معتاد توسط اسید آسکوربیک بیان شده است [۳]. اخیراً نیز گزارش‌هایی وجود دارند که بر تأثیر مصرف هروئین در کاهش میزان اسید آسکوربیک پلاسمای افراد معتاد دلالت دارد [۱۶]. چون در حال حاضر بر اساس تئوری‌های موجود انتقال عصبی دوپامین در سیستم مزولیمبیک عموماً به عنوان هدف اصلی داروهای مخدر شناخته شده است و در حقیقت اکثریت قریب به اتفاق داروهایی که توسط انسان به صورت نامتعارف مصرف می‌شوند، انتقال دوپامین در دستگاه لیمبیک را تحریک می‌کنند که این ویژگی به خاصیت اعتیادآور آنها ارتباط داده شده است [۱۱] و با توجه به آنچه که در بالا در مورد نقش مستقیم و غیر مستقیم اسید آسکوربیک در کاهش عوارض فیزیکی ترک اعتیاد و تأثیر این ماده در تغییر عملکرد دستگاه دوپامینی که از عوامل اصلی ایجاد وابستگی به مرفین می‌باشد. در این تحقیق اثر

Archive of SID

الف) مرحله پیش شرطی سازی

(Preconditioning phase):

در اولین روز از دوره که روز آشنایی حیوان با محیط خواننده می‌شود، پس از برداشتن دریچه گیوتینی، هر حیوان را به مدت ۱۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار می‌دادیم تا آزادانه در محیط گردش کند و کاملاً با فضای جدید آشنا گردد.

ب) مرحله شرطی سازی یا آموزش

(Conditioning phase):

برای اینکه حیوانات را به مکان معینی شرطی کنیم، طی مدت ۳ روز به طور متناوب به آنها دارو تزریق می‌کردیم. بدین نحو که در ساعت ۹ صبح روز دوم پس از توزین حیوانات دارو را به صورت داخل صفاقی یا زیرجلدی (S.C., i.p.) به هر حیوان تزریق و پس از بستن دریچه گیوتینی، آنها را به مدت ۳۰ دقیقه در قسمت سفید قرار می‌دادیم. در ساعت ۱۵ همان روز پس از توزین مجدد حیوانات به هر کدام نرمال سالین به میزان ۱۰ ml/kg به صورت داخل صفاقی یا زیر جلدی (S.C., i.p.) تزریق نموده و آنها را به مدت ۳۰ دقیقه در قسمت سیاه قرار می‌دادیم. در روز سوم در نوبت صبح به حیوانات سالین و در نوبت بعد از ظهر دارو تزریق می‌شد. در روز چهارم مانند روز دوم در نوبت صبح دارو و در نوبت بعد از ظهر سالین تزریق می‌شد.

ج) مرحله پس از شرطی سازی (یا مرحله آزمون)

(Postconditioning phase):

آخرین روز از هر دوره آزمایش به عنوان روز آزمون قلمداد می‌شود. در این روز حیوان را در داخل دستگاه CPP که دریچه آن هم برداشته شده است، قرار می‌دهیم. آنگاه به حیوان اجازه می‌دهیم تا به مدت ۱۵ دقیقه در محیط آزادانه گردش کند. سپس مدت زمان توقف حیوان در هر

قسمت را یادداشت کرده و زمان توقف حیوان در قسمتی که دارو دریافت نموده (Drug Paired-DP) و مدت زمان توقف حیوان در قسمتی که سالین دریافت کرده (Saline Paired-SP) را ثبت کرده و نمره شرطی شدن (Conditioning Score) با کم کردن زمان توقف در قسمت دریافت سالین (SP) از مدت زمان توقف در قسمت دریافت دارو (DP) محاسبه شود.

گروه بندی دارویی: به منظور بررسی اثر اسید آسکوربیک بر بیان (اثر حاد) ترجیح مکان ناشی از مرفین، دوزهای مختلف اسید آسکوربیک در روز آزمون و ۲۰ دقیقه قبل از شروع کار به حیوانات تزریق شد و سپس حیوانات در داخل دستگاه قرار گرفتند. برای تعیین اثر اسید آسکوربیک بر کسب (اثر مزمن) ترجیح مکان شرطی شده توسط مرفین، اسید آسکوربیک در روزهای آموزش (مرحله شرطی سازی) ۲۰ دقیقه قبل از تزریق مرفین به حیوانات تزریق شد.

بررسی اثرات داروها بر رفتار حرکتی در حیوانات: چون در هنگام بررسی اثر حاد اسید آسکوربیک، ممکن است تجویز دارو باعث ایجاد اختلال حرکتی نیز بشود و این اثر با تأثیر دارو بر خواص پاداشی مرفین تداخل کند، به منظور بررسی اثر داروها در القاء حرکت یا کاهش آن در حین انجام آزمون ترجیح مکان شرطی شده، فعالیت حرکتی حیوان نیز مورد بررسی قرار گرفت. این عمل با استفاده از یک حرکت سنج مادون قرمز انجام شد.

آنالیز آماری: در این مطالعه نمره شرطی شدن به عنوان شاخصی جهت ارزیابی ترجیح مکانی در نظر گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل آماری گروه‌های آزمایش نسبت به گروه‌های کنترل از آزمون آنالیز - واریانس یک طرفه استفاده شد. به منظور تعیین اختلاف گروه‌ها از آزمون Tukey Post t-test استفاده شد. نتایج به صورت Mean \pm S.E.M نمره شرطی شدن بیان شد. در تمامی

Archive of SID

موارد، $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار بودن تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

۱- بررسی اثر مرفین در القاء ترجیح مکان شرطی شده در موش سوری :

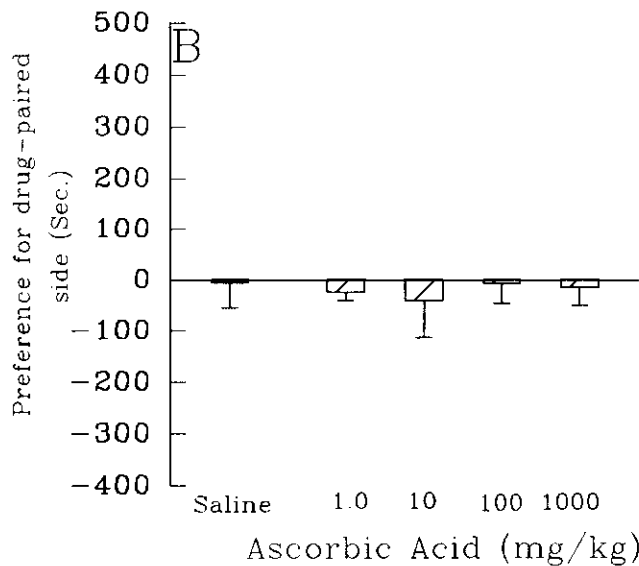
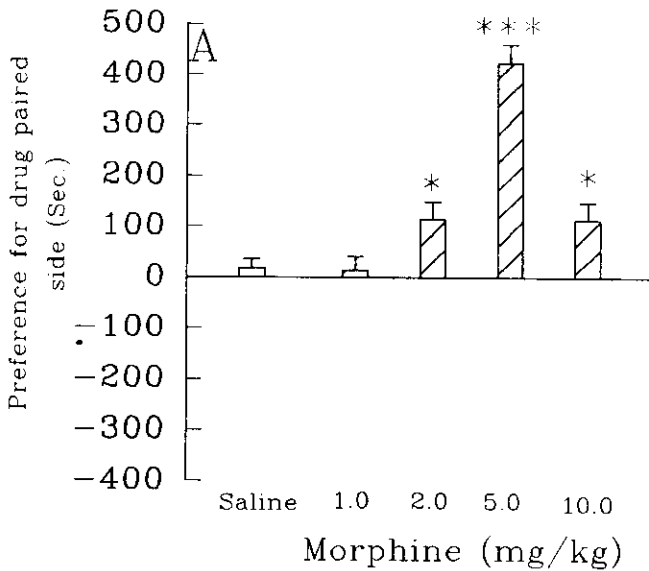
تزریق زیر جلدی (S.C.) سولفات مرفین با دوزهای ۱ و ۲ و ۵ و ۱۰ به حیوانات مورد مطالعه موجب گردید که نسبت به قسمت دریافت مرفین، ترجیح مکان شرطی شده (CPP) معنی داری به وجود آید [$P < 0.0001$] و $F(4, 36) = 0.25/0.48$ در حالی که تجویز داخل صفاقی سالین (۱۰ ml/kg) به تنهایی، نتوانست CPP معنی داری در حیوانات ایجاد نماید [$P < 0.0001$] و $F(4, 36) = 0.25/0.48$ (شکل A-۱).

۲- بررسی اثر اسید آسکوربیک در القاء ترجیح مکان شرطی شده در موش سوری :

تزریق داخل صفاقی اسید آسکوربیک در دوزهای مختلف (۱ mg/kg، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰) نتوانست ترجیح یا تنفر مکان شرطی شده معنی داری نسبت به گروه کنترل (سالین) ایجاد نماید [$P = 0.09$ و $F(4, 37) = 0.22$] (شکل B-۲).

۳- ارزیابی اثر اسید آسکوربیک بر کسب CPP ناشی از مرفین :

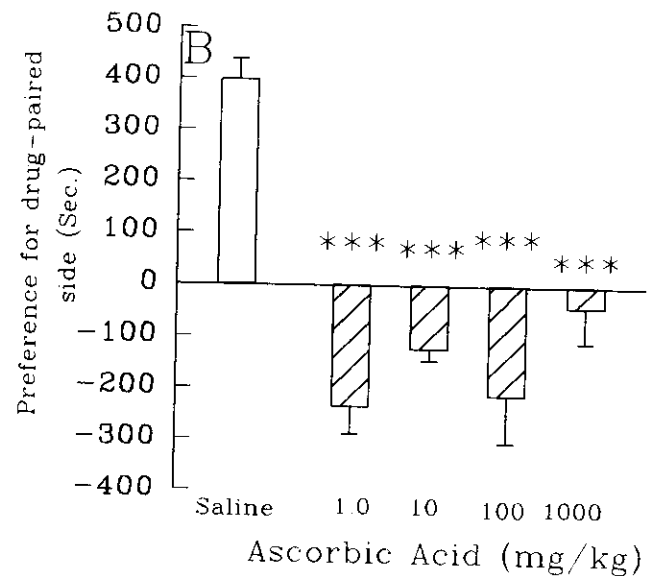
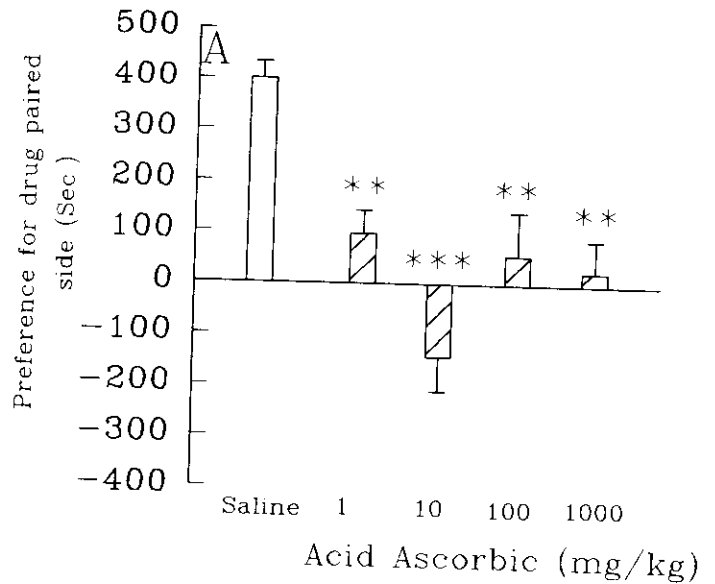
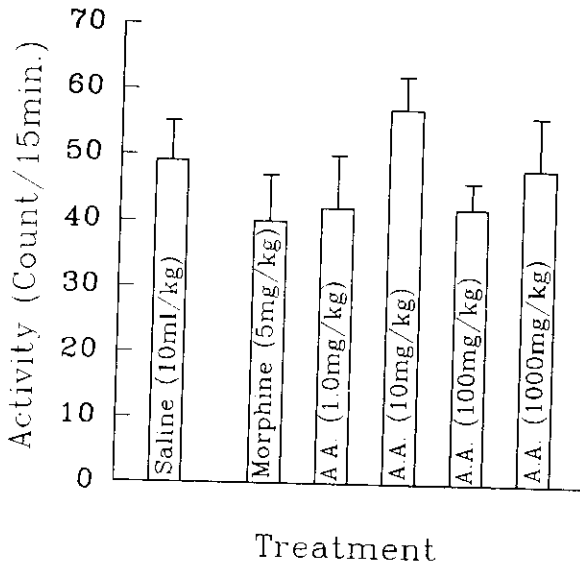
تجویز داخل صفاقی اسید آسکوربیک (۱ mg/kg، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰) ۲۰ دقیقه قبل از تجویز مرفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) در روزهای آموزش سبب کاهش معنی داری در کسب CPP ناشی از مرفین به وجود آورد [$P < 0.0001$] و $F(4, 31) = 10.79$ (شکل A-۲).



شکل ۱- اثر مرفین (A) و اسید آسکوربیک (B) در القاء ترجیح مکان شرطی شده.

در قسمت A حیوانات در روزهای آموزش (روزهای دوم تا چهارم) مرفین دریافت کرده‌اند و در روز پنجم بدون دریافت دارو تست شده‌اند. در قسمت B حیوانات در روزهای آموزش (روزهای دوم تا چهارم) اسید آسکوربیک دریافت کرده‌اند و در روز پنجم بدون دریافت دارو تست شده‌اند. گروه‌های کنترل در هر دو قسمت در روزهای آموزش تنها سالین دریافت کرده‌اند. همچنانکه در شکل ملاحظه می‌شود، تفاوت معنی داری در ترجیح قسمت دریافت دارو نسبت به قسمت دریافت سالین در مورد مرفین وجود دارد. در حالی که تفاوت معنی داری در ترجیح یکی از دو قسمت در مورد اسید آسکوربیک وجود ندارد (n=8، داده‌ها به صورت Mean ± S.E.M. نمره شرطی شده بیان شده است و $**P < 0.01$ و $*P < 0.05$).

Archive of SID



شکل ۲- اثر اسید آسکوربیک بر کسب (A) و بیان (B) ترجیح مکان شرطی شده توسط مرفین.

در قسمت A (اثر مزمن دارو) حیوانات ۲۰ دقیقه قبل از دریافت مرفین در روزهای آموزش (روزهای دوم تا چهارم) اسید آسکوربیک دریافت کرده‌اند و در روز پنجم بدون دریافت دارو تست شده‌اند. در قسمت B (اثر حاد دارو) حیوانات در روزهای دوم و سوم و چهارم (آموزش) مرفین دریافت می‌کردند و ۲۰ دقیقه قبل از شروع آزمون در روز پنجم اسید آسکوربیک دریافت کرده‌اند (n=8)، داده‌ها به صورت Mean ± S.E.M نمره شرطی شده بیان شده است و $P < 0.001$ و $P < 0.01$.

شکل ۳- اثر تزریق سالین، مرفین و اسید آسکوربیک بر فعالیت حرکتی حیوانات.

به این منظور حیوانات در یک دستگاه حرکت سنج مادون قرمز قرار گرفته و فعالیت حرکتی آنها ثبت شده است (برای هر گروه n=8 و داده‌ها به صورت Mean ± S.E.M برای ۱۵ دقیقه فعالیت حرکتی بیان شده‌اند).

۴- ارزیابی اثر اسید آسکوربیک بر بیان CPP ناشی از مرفین:

تجویز سیستمیک اسید آسکوربیک در دوزهای (۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰) در روز آزمون و ۲۰ دقیقه پیش از شروع تست، سبب کاهش چشمگیر اما غیر وابسته به دوز بیان ترجیح مکان شرطی شده توسط مرفین گردید [F(۴، ۳۱) = ۲۱/۲ و $P < 0.0001$]، (شکل B-۲).

۵- بررسی اثرات حرکتی داروها:

در بررسی اثر داروها بر فعالیت حرکتی حیوانات مشخص شد که هیچکدام از داروها قادر به القاء حرکت اضافی در آنها نبوده و فعالیت حرکتی در این حیوانات با گروه کنترل تفاوتی ندارد. به بیان دیگر، می‌توان گفت که اسید آسکوربیک توانسته است با اثر بر مکانیسم‌هایی سبب

Archive of SID

القاء تنفر مکان شرطی شده شود، زیاد بود. زیرا در تحقیقات دیگر نشان داده‌اند که مهار رها شدن دوپامین سبب القاء تنفر مکان شرطی شده در حیوانات می‌گردد [۱].

بررسی اثر اسید آسکوربیک بر کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین نشان داد که در دوزهای مختلف این ماده سبب کاهش شدید اثر مرفین می‌شود. همچنین تجویز اسید آسکوربیک در روز آزمون نیز توانست بیان ترجیح مکان شرطی شده توسط مرفین را از بین ببرد. معنی این نتایج آن است که اسید آسکوربیک می‌تواند تکامل وابستگی به مرفین را در موش‌های سوری مهار کند. علت این پدیده را می‌توان در عملکرد اسید آسکوربیک جستجو کرد. این ماده اثر مهمی را در کاهش تمایل گیرنده‌های دوپامینی به لیگاند دارد [۱، ۲]. چون القاء خواص پاداشی مرفین به افزایش فعالیت مسیر دوپامینی مزو کورتیکولیمبیک و در نتیجه افزایش غلظت و عملکرد دوپامین وابسته است [۱، ۲]. می‌توان گفت که اسید آسکوربیک با مهار روند فعال شدن مسیر دوپامینی فوق اثرات پاداشی دوپامین را خنثی کرده است. از سوی دیگر، اسید آسکوربیک در دفع سموم بدن نقش مهمی دارد [۳] و ممکن است که از این راه بر القاء ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین موثر باشد. امکان دارد که هر دو طریق گفته شده در این امر مؤثر باشند. از سوی دیگر اطلاعات زیادی نشان دهنده توانایی اسید آسکوربیک در کاهش عوارض وابستگی به اوبیوئیدها در گونه‌های مختلف جانوری و انسان می‌باشد از جمله اینکه تجویز دوزهای بالای اسید آسکوربیک می‌تواند عوارض ترک اعتیاد را در معتادان کاهش دهد [۳].

دوزهای بالای این دارو همچنین می‌تواند مانع از ایجاد وابستگی فیزیکی به اوبیوئیدها و مانع از ایجاد تحمل نسبت به اوبیوئیدها در موش‌های سوری شود [۷]. در یک تحقیق نیز استفاده از اسید آسکوربیک، اسخ‌های ناشی از قطع مصرف دارو را در خوکیچه‌های معتاد کاهش داد [۶].

کاهش ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مرفین شود که با فعالیت حرکتی حیوانات ارتباطی ندارد [P=۰/۰۴] و $F(5, 45)=۰/۹۶$ ، (شکل ۳).

بحث

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تجویز زیرجلدی مرفین، ترجیح مکان شرطی شده معنی‌داری را در موش‌های سوری نسبت به گروه کنترل به وجود می‌آورد. این نتیجه در مورد موش‌های سوری با نتایج قبلی دیگر پژوهشگران در مورد موش‌های صحرایی (Rat) گزارش شده، همخوانی دارد [۱، ۲] و نشان می‌دهد که استفاده از اوبیوئیدها باعث ایجاد خواص تقویت مثبت در موش‌های سوری می‌گردد که با استفاده از روش ترجیح مکانی شرطی شده قابل مشاهده است [۱، ۲]. مکانیسم احتمالی که در مورد عملکرد پاداشی مرفین در مغز ارائه شده است، بیان می‌کند که اگر چه مرفین یک آگونیست انتخابی ضعیف برای گیرنده‌های مو (μ) اوبیوئیدی به شمار می‌رود [۱۴]. با این حال از طریق این گیرنده‌ها، نورون‌های GABA را در ناحیهٔ تگمنتوم شکمی (VTA) مهار کرده و موجب برداشت مهار از روی نورون‌های دوپامینرژیک می‌گردد. در نتیجه غلظت دوپامین در هستهٔ آکومبانس و سایر نواحی دیگر افزایش می‌یابد و این پدیده در مکانیسم پاداش نقش دارد [۱۲].

در بخش دوم این تحقیق مشاهده شد که تجویز اسید آسکوربیک اثری را بر زمان سپری شده در قسمت‌های مختلف دستگاه نداشت و این نشان می‌دهد که این دارو دارای توانایی القاء خواص پاداشی در موش سوری نیست. اسید آسکوربیک می‌تواند اتصال آگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی را کاهش دهد و نیز سبب کاهش تولید آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP) در سلول‌های دارای گیرندهٔ دوپامینی می‌شود [۱، ۲]. این احتمال که دارو بتواند سبب

Archive of SID

برای اسید آسکوربیک در نظر می‌گیرند. یک احتمال این است که اسید آسکوربیک تزریق شده سبب برداشت سریع متابولیت‌های حاصل از اکسیداسیون دوپامین شده و در نتیجه چرخه آن را کند می‌کند و با این کار عملکرد مرفین در افزایش چرخه دوپامین را مختل می‌کند. به این ترتیب اسید آسکوربیک می‌تواند ساز و کارهایی را که مرفین برای القاء وابستگی روانی در دستگاه عصبی فعال می‌سازد را مهار کرده و از بروز آثار آن جلوگیری کند.

در نهایت با توجه به اثرات دیده شده در این آزمایش باید گفت که اسید آسکوربیک یک ماده مؤثر در کاهش اثرات پاداشی مرفین است که هم بر کسب و هم بر بیان ترجیح مکان شرطی شده مؤثر است و چون یک ویتامین بی‌ضرر و با کمترین اثرات سوء جانبی است و نیز هم اکنون در بازار مصرف مورد استفاده قرار می‌گیرد، می‌توان امیدهایی را برای استفاده از آن در بازپروری معتادان داشت.

تقدیر و تشکر

این کار با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بقیه...^(عج) انجام گرفته است که به این وسیله از زحمات این عزیزان قدردانی می‌شود.

منابع

- [1] Bardo, M.T., Rowlett, J.K., Harris, M.J. Conditioned place preferences using opiate and stimulant drugs: A meta-analysis, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 19 (1995) 39-51.
- [2] Bozarth, M.A. Neural basis of psychomotor stimulant and opiate reward: evidence suggesting the involvement of a common dopaminergic system, *Behav. Brain Res.*, 22 (1996) 107-116.
- [3] Enrico, P., Eposito, G., Mura, M.A., Fresu, L., DeNatale, G. et al. Effect of morphine on striatal dopamine metabolism and ascorbic acid and uric acid release in freely moving rats, *Brain Res.*, 745 (1996) 173-182.
- [4] Evangelou, A., Kalfakakou, V., Georgakas, P., Koutras, V., Vezyraki, P. et al. Ascorbic acid (Vitamin C) effects on withdrawal syndrome of heroin abusers, *In Vivo*, 14 (2000) 363-366.
- [5] Grunberg, N.E. Overview: Biological

Archive of SID

- processes relevant to drug of dependence, *Addiction*, 89 (1994) 1443-1446.
- [6] Johanston, P.A., Chahl, L.A. Chronic treatment with ascorbic acid inhibits the morphine withdrawal response in guinea-pigs, *Neurosci. Lett.*, 135 (1992) 23-37.
- [7] Khanna, N.C., Sharma, S.K. Megadoses of vitamin C prevent the development of tolerance and physical dependence on morphine in mice, *Life Sci.*, 33 (1983) 401-404.
- [8] Kim, H.S. and Park, W.K. Nitric oxide mediation of cocaine induced dopaminergic behaviors: ambulation-accelerating activity, reverse tolerance and conditioned place preference, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 275 (1995) 551-557.
- [9] Lam, D.K.C., Daneil, P.M. The influx of ascorbic acid into the rat brain, *Q.J. Exp. Physiol.*, 71 (1986) 483-490.
- [10] Libby, A.F., Stone, L. The hypoascorbemia-kwashiorkor approach to drug addiction therapy: a pilot study, *J. Orthomol. Psychiatry*, 6 (1977) 300-308.
- [11] Koob, G.F. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways, *Trends Pharmacol. Sci.*, 13 (1992) 177-184.
- [12] Mattews, R.T., German, D.C. Electrophysiological evidence for excitation of rat ventral tegmental area dopamine neurons by morphine, *Neurosci.*, 11 (1984) 617-625.
- [13] Spector, R. Penetration of ascorbic acid from cerebrospinal fluid into the brain, *Exp. Neurol.*, 72 (1982) 645-653.
- [14] Spanagel, R. Modulation of drug-induced sensitization processes by endogenous opioid systems, *Behav. Brain Res.*, 70 (1995) 37-49.
- [15] Tolbert, L.C., Morris, P.E., Spollen, J.J., Ashe, S.C. Stereospecific effects of ascorbic acid and analogues on D₁ and D₂ agonist binding, *Life Sci.*, 51 (1992) 921-930.
- [16] Zhou, J.F., Yan, X.F., Ruan, Z.R., Peng, F.Y., Cai, D. et al. Heroin abuse and nitric oxide, oxidation, peroxidation, lipoperoxidation, *Biomed Environ Sci.*, 13 (2000) 131-139.