

اثر اسید آسکوربیک بر دامنه پتانسیل عمل فیلد هسته تگمنتوم شکمی موش‌های صحرایی معتاد به مرفین

چکیده:

مقدمه و هدف: مطالعه‌های زیادی نشان داد که هسته تگمنتوم شکمی سرشار از نرون‌های دوپامینرژیک بوده که از طریق ارتباط با سیستم لیمبیک مغز در بروز اختلالات رفتاری ناشی از اعتیاد شرکت می‌کند. همچنین گفته می‌شود که اسید آسکوربیک از طریق تأثیر بر فعالیت‌های نرون‌های این هسته می‌تواند وابستگی به مرفین را کاهش دهد، لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر اسید آسکوربیک بر دامنه پتانسیل عمل فیلد هسته تگمنتوم شکمی موش‌های صحرایی معتاد به مرفین بود.

مواد و روش‌ها: این یک مطالعه تجربی است که طی سال‌های ۱۳۸۹-۱۳۸۸ در دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد. تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار پس از الکتروگذاری و سپری دوران بهبودی به طور تصادفی به ۴ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند؛ گروه اول، مرفین و اسید آسکوربیک دریافت نکردند. گروه دوم، تنها اسید آسکوربیک دریافت نمودند. گروه سوم، تنها مرفین دریافت کردند. گروه چهارم، هم مرفین و هم اسید آسکوربیک دریافت کردند. در روز بیستم مطالعه امواج مغزی هسته تگمنتوم شکمی انجام گرفته و پس از جمع‌آوری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس دو طرفه و پست هاک توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که مرفین باعث کاهش توان باند بتا و دلتای هسته تگمنتوم شکمی شد ($p < 0/05$)، در حالی که اسید آسکوربیک به تنهایی توانسته است تأثیرات افزایشی خود را بر برخی از باندهای این هسته نظیر: تتا و بتا داشته باشد ($p < 0/05$). همچنین اسید آسکوربیک توانسته است باعث تغییر فعالیت الکتریکی باندهای دلتا و تتا که دامنه آنها تحت تأثیر مرفین قرار گرفته بود، شود ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: هرچند مکانیسم دقیق اثر اسید آسکوربیک بر دامنه امواج نرون‌های هسته تگمنتوم شکمی مشخص نیست، اما تصور می‌شود که این اثرات از طریق تأثیر بر فعالیت الکتریکی نرون‌های دوپامینرژیک باشد.

واژه‌های کلیدی: الکترو فیزیولوژی، اسید آسکوربیک، هسته تگمنتوم شکمی، مرفین

خلیل سعدی پور*

رضا محمودی**

جمشید محمدی***

حمداالله دلاویز**

محمد رضا نیکبخت****

*کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی

یاسوج، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

**دکترای علوم تشریحی، استادیار دانشگاه علوم

پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی، گروه علوم

تشریحی

***دکترای فیزیولوژی، استادیار دانشگاه علوم

پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

****دکتری فارماکولوژی، دانشیار دانشگاه علوم

پزشکی کاشان، دانشکده پزشکی، گروه

فارماکولوژی

تاریخ وصول: ۱۳۸۹/۲/۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۳/۱۰

مؤلف مسئول: خلیل سعدی پور

پست الکترونیک: saadipour_kh@yahoo.com

مقدمه

نقش کلیدی سیستم‌های دوپامینرژیک، گلوتامینرژیک و نورآدرنرژیک در ناهنجاری‌های عصبی مانند؛ پارکینسون، اسکیزوفرنی، آلزایمر و اعتیاد کاملاً مشخص شده است و از آنجایی که این سه سیستم با اسکوربات تداخل دارد (۱ و ۲)، لذا هدف از این مطالعه تجویز اسید آسکوربیک و بررسی فعالیت الکتریکی نرون‌های دوپامینرژیک هسته تگمتوم شکمی در حیوانات معتاد بود.

مواد و روش‌ها

این یک مطالعه تجربی است که در سال‌های ۱۳۸۹-۱۳۸۸ در دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید.

تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰-۳۰۰ گرم انتخاب شد. حیوانات با تزریق داخل صفاقی ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کتامین هیدروکلراید و ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن گزیلازین تحت بیهوشی عمومی قرار گرفتند (۸). سپس الکترودهای دو قطبی ساخته شده از قبل با استفاده از سوکت‌های مخابراتی و سیم استیل زنگ نزن عایق شده با تفلون به قطر

هسته تگمتوم شکمی سرشار از نرون‌های دوپامینرژیک بوده که از طریق ارتباط با سیستم لیمبیک مغز در بروز اختلالات رفتاری ناشی از اعتیاد شرکت می‌کند. مطالعه‌های زیادی نشان داد که افزایش فعالیت‌های الکتریکی نرون‌های دوپامینرژیک مسیر ناحیه تگمتوم مغز^(۱) به هسته اکومبیس^(۲) برای مدت طولانی منجر به وابستگی روانی نسبت به داروهای اعتیادآور می‌شود، بنابراین سیستم دوپامینرژیک مغز به ویژه در هسته تگمتوم شکمی در وابستگی و تحمل به مرفین نقش مهمی دارد (۱).

اسید آسکوربیک که یک ویتامین محلول در آب و آنتی‌اکسیدان است، در مغز پستانداران بیش از هر بافت دیگری تجمع می‌یابد. این ویتامین در واکنش‌های آنزیمی بیوشیمیایی زیادی مشارکت دارد و اخیراً نقش نروترانسمیتری برای آن مطرح شده است. در بعضی از نقاط مغز، مولکول اسکوربات به عنوان مولکول علامت دهنده عمل می‌کند (۲).

امروزه سعی بر آن است که با استفاده از روش‌های دارویی و همچنین با استفاده از بخش‌های مختلف گیاهان دارویی مانند کدوی سبز هندی^(۳)، نخل هندی^(۴)، پنیربند خواب‌آور^(۵) و الکیل کوهی^(۶) اعتیاد و علائم رفتاری آن را در افراد معتاد کاهش دهند (۳-۶). یکی از این گیاهان دارویی مورد استفاده جهت کاهش وابستگی‌های اعتیادی، افشره میوه گریپ فروت^(۷) است که به علت دارا بودن اسید آسکوربیک فراوان و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی، مطالعه‌های زیادی بر روی آن انجام شد (۷).

1-Ventral Tegmentum Area (VTA)
2-Nucleus Accumbens
3-Benincasa Hispida
4-Areca Catechu
5-Withania Somnifer
6-Rosmarinus Officinalis
7-Citrus Paradisi Macf

۲۰۰ میکرون را به کمک دستگاه استریوتاکس در هسته تگمنتوم شکمی با توجه به مختصات استخراج شده هسته ناحیه تگمنتوم مغز از اطلس جراحی پاکسین و واتسون^(۱) (۲۰۰۵) (AP: ۴/۸- میلی متر، ML: ۱- میلی متر و DV: ۸/۲- میلی متر)(۹) در جمجمه حیوانات کاشته و با کمک سیمان دندان پزشکی بر سطح جمجمه حیوان ثابت شدند.

موش‌ها پس از ۷-۱۰ روز دوره بهبود به طور تصادفی به ۴ گروه ۱۰ تایی به شرح زیر تقسیم شدند؛ گروه اول، مرفین و اسید آسکوربیک دریافت نکردند. گروه دوم، تنها اسید آسکوربیک دریافت نمودند. گروه سوم، تنها مرفین دریافت کردند. گروه چهارم، هم مرفین و هم اسید آسکوربیک دریافت کردند.

نحوه تجویز مرفین به حیوانات به این صورت بود که ابتدا پودر خالص مرفین که از شرکت تمار ایران خریداری شده بود در محلول دکستروز ۵ درصد حل نموده و به مدت ۲۰ روز با دوز افزایشی (۵ روز اول ۵ میلی گرم بر کیلوگرم، ۵ روز دوم ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم، ۵ روز سوم ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم و ۵ روز چهارم ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. گروهی که معتاد نمی شدند به جای مرفین تنها ۱ میلی لیتر محلول دکستروز را دریافت کردند. هم چنین نحوه تجویز اسید آسکوربیک با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیم ساعت قبل از تجویز مرفین به مدت ۲۰ روز به روش داخل صفاقی بوده است (۱۰). گروه ۱ و ۳ به جای اسید آسکوربیک، ۱ میلی لیتر محلول سرم فیزیولوژی را دریافت نمودند.

در روز ۲۱ بعد از تجویز مرفین ابتدا تست رفتاری درد^(۲) به منظور بررسی تأثیر مرفین و اسید آسکوربیک به عنوان یک تست رفتاری جهت همراهی آن با مطالعه‌های الکتروفیزیولوژی انجام شد و سپس ثبت امواج مغزی هسته تگمنتوم شکمی به صورت ثبت پتانسیل عمل فیلد به وسیله سیستم Power lab انجام گرفت. برای انجام تست رفتاری درد به وسیله دستگاه Tail flick ابتدا ناحیه ۸ سانتی متری دم حیوان علامت زده شد و سپس زیر چشمه حرارتی ۵۰ درجه سانتی گراد این دستگاه قرار گرفته و مدت آن به وسیله کرومومتر ثبت گردید. زمانی که حیوان احساس درد می نمود و دم خود را می کشید دستگاه خاموش و کرومومتر متوقف می شد. جهت بررسی بهتر این تست برای هر حیوان ۳ بار انجام می شد و میانگین آن برای هر موش گزارش گردید که در نهایت آستانه درد هر گروه به صورت میانگین و انحراف معیار گزارش گردید.

پس از انجام تست رفتاری، مطالعه الکتروفیزیولوژی انجام شد، به این صورت که در طی ۱ دقیقه ثبت پس از یک وقفه ۵ دقیقه‌ای دامنه باندهای امواج مغزی هسته تگمنتوم شکمی شامل؛ باند دلتا با محدوده فرکانسی ۳/۹-۳/۰ هرتز و میانگین فرکانس ۲/۱ هرتز، باند تتا با محدوده فرکانسی ۸-۴ هرتز با میانگین ۶، باند آلفا با محدوده ۱۲-۱/۸ هرتز و میانگین ۱۰/۰۵ هرتز و در نهایت باندهای بتا و گاما به ترتیب؛ با محدوده فرکانسی ۳۰-۱۲/۱ و ۶۵-۳۰/۱

1-Paxinos & Watson
2-Tail flick Test

همراه مرفین، اسید آسکوربیک را مصرف نمودند مشخص شد که اسید آسکوربیک توانسته است موجب افزایش معنی‌دار توان باندهای دلتا و تتا شود ($p < 0.05$)، این تغییرات در سایر باندها معنی‌دار نبود (نمودار ۱).

نتایج این تحقیق نشان داد که مرفین و اسید آسکوربیک نتوانست تغییرات معنی‌داری بر دامنه امواج گاما داشته باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

افزایش فعالیت‌های الکتریکی نرون‌های دوپامینرژیک مسیر ناحیه تگمنتوم مغز منجر به وابستگی روانی به داروهای اعتیادآور می‌شود (۱)، از طرفی نشان داده شد که اسید آسکوربیک از طریق تأثیر بر نرون‌های هسته تگمنتوم می‌تواند وابستگی به مرفین را کاهش دهد (۲)، لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر اسید آسکوربیک و بررسی فعالیت الکتریکی نرون‌های دوپامینرژیک هسته تگمنتوم شکمی در حیوانات معتاد بود.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که اسید آسکوربیک توانست تأثیرات قابل ملاحظه‌ای بر دامنه باندهای فرکانسی هسته تگمنتوم شکمی حیواناتی که سالم بودند و یا مرفین مصرف نمودند داشته باشد، هر چند که این تغییرات در تمام باندها مشاهده نشد، اما در برخی از آنها قابل ملاحظه و معنی‌دار بود.

هرتز با میانگین ۲۱/۰۵ و ۴۷/۵۵ هرتز در سه نقطه تصادفی از یک دقیقه ثبت، تعیین گردیده‌اند و میانگین آنها برای هر موش و سپس برای هر گروه گزارش شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS^(۱) و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس دو طرفه^(۲) و توکی^(۳) تجزیه و تحلیل شدند.

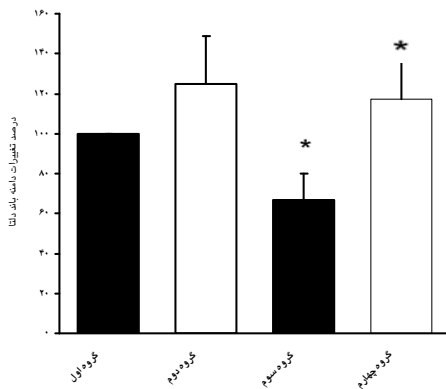
یافته‌ها

نتایج بافت‌شناسی این تحقیق نشان داد که الکتروود مورد نظر در هسته تگمنتوم پستی قرار گرفته بود به گونه‌ای که قبل از آنالیز آماری داده‌ها، حیواناتی که محل الکتروود در مغز آنها مطابق اطلس جراحی پاکسین و واتسون به درستی واقع نشده بود از مطالعه حذف شدند.

جهت بررسی تأثیر اسید آسکوربیک و مرفین بر دامنه باندهای آلفا، بتا، تتا، دلتا و گامای هسته تگمنتوم شکمی حیوانات، ابتدا داده‌ها بر مبنای درصد، نرمال شدند و سپس با گروه کنترل مقایسه گردیدند.

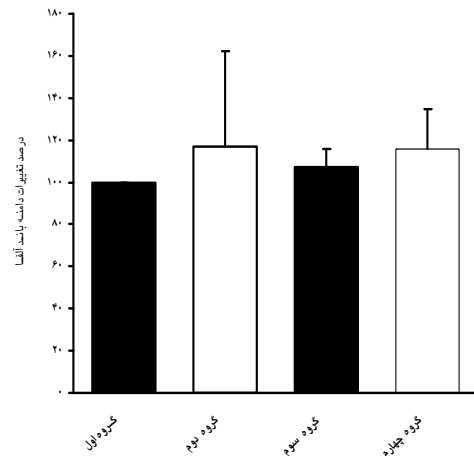
نتایج این مطالعه نشان داد که مرفین به تنهایی موجب کاهش توان باندهای فرکانسی دلتا و تتا شد ($p < 0.05$). هر چند تغییرات معنی‌داری در جهت افزایش یا کاهش سایر باندها دیده نشد. همچنین مشخص شد که اسید آسکوربیک به تنهایی توانسته است دامنه باندهای فرکانسی تتا و بتا را افزایش دهد ($p < 0.05$)، اما تغییرات قابل ملاحظه‌ای بر باندهای آلفا و دلتا نداشت. در مقایسه گروه ۴ که به

1-Statistical Package for Social Sciences
2-Two-Way Analysis of Variance (ANOVA)
3-Tuky test



د- دامنه باندا دلتا

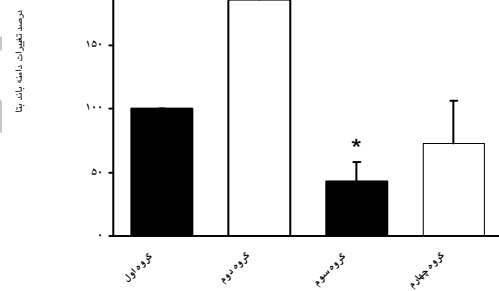
$p < 0.05$ *



الف - دامنه باندا آلفا

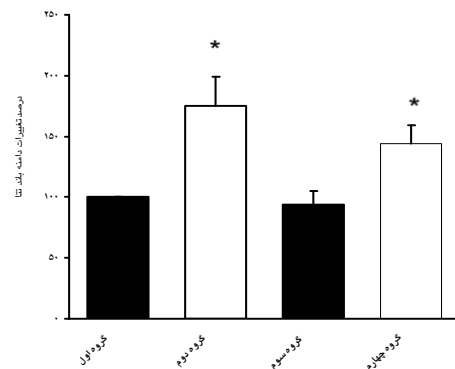
نمودار ۱: بررسی تأثیرات اسید آسکوربیک بر دامنه پتانسیل عمل باندهای آلفا، بتا، تتا و دلتای هسته تگمنتوم شکمی در گروه‌های مورد مطالعه

مطالعه‌های زیادی در خصوص اثرات مفید اسید آسکوربیک بر رفتار حیواناتی که وابسته به مرفین بودند، نشان می‌دهد که تأثیرات آن بر رفتار حیوانات به علت تأثیرات بیوشیمیایی خواص آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد (۱۰ و ۷)، اما بررسی‌های الکتروفیزیولوژی کمتری در دسترس است که تأثیرات مرفین و اسید آسکوربیک را در مغز گزارش داده باشند. هسته تگمنتوم شکمی سرشار از نرون‌های دوپامینرژیک بوده که شاخه‌هایی از آن را به نواحی دیگر نظیر هسته اکومبیس و قشر جلوی پیشانی می‌فرستد و اغلب داروهایی که مورد سوء استفاده قرار می‌گیرند فعالیت این نرون‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۱۲ و ۱).



ب - دامنه باندا بتا

$p < 0.05$ *



ج - دامنه باندا تتا

$p < 0.05$ *

دیگر آن را باید نتیجه فعالیت‌های دیگر مرفین دانست. همچنین تجویز طولانی مدت مرفین باعث افزایش حساسیت بخش قشری مغز به نروتراکسمیتر گلوتامات و باعث تغییر در سطح دوپامین ناحیه مزولیمبیک می‌شود که خود به وسیله فعالیت گلوتاماترژیک تنظیم می‌گردد (۱۴).

بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهند که تجویز اسید آسکوربیک موجب کاهش علائم وابستگی به مرفین می‌گردد، هرچند فرایند اثر اسید آسکوربیک در روند کاهش علائم ترک اعتیاد به خوبی مشخص نشده است. ولی مکانیسم‌های احتمالی آن می‌تواند کاهش یا افزایش میزان پیامبرهای ثانویه، تحریک تولید آدرنوکورتیکوتروپین و کورتیزول، جلوگیری از متابولیسم و مهم‌تر از همه تأثیر افزایشی بر فعالیت سیستم دوپامینرژیک و گلوتامینرژیک هسته تگمنتوم شکمی باشد. این دلایل می‌تواند گواه این باشد که تأثیرات اسید آسکوربیک بر فعالیت الکتریکی برخی از باندهای هسته تگمنتوم شکمی از طریق تأثیر بر فعالیت‌های سیستم دوپامینرژیک و گلوتامینرژیک انجام می‌شود (۱۶ و ۱۵، ۱۰).

در مجموع نتیجه‌گیری می‌شود که اسید آسکوربیک توانسته است بر دامنه برخی از باندهای پتانسیل عمل فیلد هسته تگمنتوم شکمی حیوانات سالم و معتاد تأثیرگذار باشد. در پایان پیشنهاد می‌شود به

بررسی‌ها نشان می‌دهند که میزان فعالیت پایه^(۱) نرون‌های دوپامینرژیک در موش‌های صحرایی که وابسته به مرفین بودند در مقایسه با موش‌هایی که معتاد نشده‌اند یا طی دوره محرومیت از مرفین به سر می‌برند، بیشتر است. همچنین نشان داده شد در حیوان‌هایی که در طی دوره محرومیت از مرفین هستند یا اصلاً معتاد نشده‌اند تجویز مرفین به صورت حاد فعالیت نرون‌های دوپامینرژیک هسته تگمنتوم شکمی را افزایش می‌دهد (۱۲ و ۱). تزریق سریع مرفین باعث ایجاد امواج مغزی با دامنه زیاد (حداقل ۸۰ میلی‌ولت) و فرکانس پایین (حداقل ۱۰ هرتز) می‌گردد. مرفین با دوز پایین باعث ایجاد امواج با ولتاژ پایین و تجویز دوزهای بالا موجب تولید امواج مغزی با ولتاژ بالاتر می‌گردد (۱۳).

شواهد دیگری بیان می‌کند که مرفین باعث یک ناهماهنگی و کاهش توان در همه فرکانس‌های امواج مغزی به جز بتا دو می‌شود که این اثر مرفین می‌تواند به وسیله نالوکسان آنتاگونیست شود. نتایج تحقیق حاضر نیز نشان می‌دهد که دامنه برخی از باندهای هسته تگمنتوم شکمی تحت تأثیر اثر کاهش مرفین قرار گرفته است که به نوعی با مطالعه‌های محققین دیگر همخوانی دارد (۱۱ و ۱۲).

نتایج نشان می‌دهند که بخشی از این کاهش نتیجه فعالیت نرون‌های دوپامینرژیک از طریق تأثیر بر رسپتور دوپامینرژیک طی اعتیاد می‌باشد و بخش

1-The Basal Firing Rate

منظور بررسی بهتر اثرات اسیدآسکوربیک بر
فعالیت‌های الکتریکی نرون‌های هسته تگمنتوم شکمی
از انواع دیگر مطالعه‌های الکتروفیزیولوژی نظیر ثبت
درون سلولی نرون‌ها استفاده شود.

تقدیر و تشکر

این طرح تحقیقاتی به تصویب شورای
پژوهشی دانشکده پزشکی و دانشگاه علوم پزشکی
یاسوج رسید، بدین وسیله نویسندگان مقاله لازم
می‌دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم
پزشکی و دانشکده پزشکی یاسوج تشکر و قدردانی
نمایند.

Archive of SID

Effects of Ascorbic Acid on the Amplitude of Ventral Tegmental Area Field Action Potential in Morphine-Exposed Rats (An Electrophysiology Study)

Saadipour K^{*},
Mahmoudi R^{**},
Mohammadi J^{***},
Delaviz H^{****},
Nikbakht MR^{*****}.

^{*} MSc in Physiology, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Science, Yasuj, Iran

^{**} Assistant Professor of Anatomy, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

^{***} Assistant Professor of Physiology, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

^{****} Associate Professor of Pharmacology, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Science, Kashan, Iran

Received:25/04/2010

Accepted:31/05/2010

Corresponding Author: Saadipour K
Email: saadipour_kh@yahoo.com

ABSTRACT:

Introduction & Objective: Evidences have indicated that the Ventral Tegmental Area (VTA) is the major source of dopamine (DA) neurons projecting to cortical and limbic regions involved in cognitive and motivational aspects of addiction. Also, studies have indicated that the Ascorbic acid (vitamin C) can reduce the dependency symptoms of opioids such as morphine via effect of activity on dopaminergic neuron in VTA. For this reason, the aim of this study was to assess the effects of ascorbic acid on the amplitude of Ventral Tegmental Area field action potential in morphine-exposed rats.

Materials & Methods: Forty male Wistar's rats were used in this experimental study conducted at Yasuj University of Medical Sciences in 2010. Animals were randomly divided into four groups after electrode implantation and recovery period: 1. No- Vit C and No-Addicted group (nVitC.nA) 2. Vit C and No-Addicted group (VitC.nA) 3. No- Vit C and Addicted group (nVitCA) 4. Vit C and Addicted (VitC.A), The Vit C groups received 500 mg/kg of Vit C during 20 days. For addicted groups morphine was administrated once daily for 20 days. In the 20th day, the field potential recording was accomplished. Two-way ANOVA was used for data analysis followed by the Tukey test for post hoc analysis. Results were considered significant at $P < 0.05$.

Results: This study shows the exposure to morphine declined the power of Delta and Beta bands ($p < 0.05$) and Vit C solely enhance power of Theta and Beta ($p < 0.05$, $p < 0.001$) in VTA nuclei. Furthermore, Vit C could alter power of some bands which were affected by morphine. Therefore it seems that Vit C has an increasing effects on them ($p < 0.05$).

Conclusion: Although the effect of Vit C on power of the VTA bands is not well known, but it is supposed that this phenomenon can be related to alteration in activity of dopaminergic neuron in the brain.

Key Word: Electrophysiology, Ascorbic Acid, Morphine, Ventral Tegmental-Area

REFERENCES:

- 1.Zarrindast MR, Farajzadeh Z, Rostami P. Involvement of the Ventral Tegmental Area (VTA) in morphine-induced memory retention in morphine-sensitized rat. *J Behav Brain Res* 2005; (163): 100-6.
- 2.Esmaeili MH, Hosseini SM. The effects of ascorbic acid injection in to locus ceruleus and ventral tegmental area and PGI on morphine withdrawal signs in rats. *JQUMS* 2009; 13(1): 21-8.
- 3.Rover JK, Rathi SS, Vats V. Preliminary study of fresh juice of *Benincasa hispida* on morphine addiction in mice. *Fitoterapia* 2000; (71): 707-9.
- 4.Kumarnsit E, Keawpradub N, Vongvatcharanon U, Sawangjaroen K, Govitrapong P. Suppressive effects of dichloromethane fraction from the areca catechu nut on naloxone-precipitated morphine withdrawal in mice. *Fitoterapia* 2005; (16): 534-9.
- 5.Kulkarni Sk, Ninan I. Inhibition of morphine tolerance and dependence by *Withania somnifera* in mice. *Ethnopharmacol* 1997; 57(3): 213-7.
- 6.Hosseinzadeh H, Nourbakh M. Effect of *Rosmarinus officinalis* L. aerial parts extract on morphine withdrawal syndrome in mice. *Phytother Res* 2003; 17(8): 938-41.
- 7.Sarkaki AR, Saadipour Kh, Gharibnaseri MK, Badavi M. The preventive effect of grapefruit juice on withdrawal symptom in morphine addicted male rat. *Gorgan university of medical science Journal. Persian Journal* 2008; 10(1):16-20.
- 8.Wang QH, Xu RX, Najao S. Transplantation of cholinergic neural stem cells in a mouse model of Alzheimer's disease. *Chin Med J* 2005; 118(6):508-11.
- 9.Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, San Diego 2005. pp10416
- 10.Alaei H, Esmaeili M, Nasimi A, Pourshanazari A. Ascorbic acid decreases morphine self-administration and withdrawal symptoms in rat. *Pathophysiol* 2005; 12(2): 103-7.
- 11.Jurkowlaniec E, Tokaraski J, Trojnar W. Effect of unilateral ibotenate lesion of the ventral tegmental area on cortical and hippocampal EEG in freely behaving rats. *Acta Neurobiol Exp* 2003; 63:369-75.
- 12.Margolis EB, Lock H, Hjelmstad GO, Fields HL. The ventral area revisited: is there an electrophysiological marker for dopaminergic neurons?. *Physiol* 2006; 577(3): 907-24.
- 13.Zuo YF, Wang jY, Chen JH, Qiao ZM, Han JS, Cui CL. A comparison between spontaneous electroencephalographic activities induced by morphine by morphine and morphine and morphine-related environment in rats. *Brain Res* 2007; 1136: 88-101.
- 14.Ferger B, Kuschinsky K. Effects of morphine on EEG in rats and their possible relations to hypo- and hyperkinesia. *Psychopharmacol* 1995; 117(2): 200-7.
- 15.Rebec GV, Pierce RC. A vitamin as neuromodulator: ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulates dopaminergic and glutaminergic transmission. *Progr Neurobiol* 1994; 43(6): 537-65.
- 16.Esmaeili MH. The effect of ascorbic acid between the dopaminergic system, ascorbic morphine withdrawal syndrome signs in rat. *Journal of Qazvin University of Medical Sciences* 2007; 10(4): 25-31