

تأثیر ویتامین C بر بیان ترجیح مکان شرطی مورفین در موش سوری نر

سعید عباسی ملکی^۱، قادر نجفی^۲، سید کامل افتخاری^۳^۱ استادیار گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه، ایران^۲ مربی گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه، ایران^۳ دانشجوی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه، ایران

نشانی نویسنده مسؤول: ارومیه، جاده سلماس، مجتمع شماره ۳ دانشگاه آزاد اسلامی ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه فارماکولوژی،

دکتر سعید عباسی ملکی

Email: dr.s.a.maleki@gmail.com

وصول: ۹۰/۱۰/۳، اصلاح: ۹۰/۱۲/۲۱، پذیرش: ۹۱/۱/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: سیستم‌های دوپامینرژیک و گلوتاماترژیک نقش مهمی در بیان ترجیح مکان شرطی مورفین دارند. از طرفی ویتامین C (اسید اسکوربیک) از انتهای نورون‌های گلوتاماترژیک آزاد شده و فعالیت دو سیستم دوپامینرژیک و گلوتاماترژیک را تنظیم می‌کند. هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر ویتامین C بر بیان ترجیح مکان شرطی مورفین در موش سوری نر می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۹۶ سر موش سوری نر (۲۰ الی ۳۰ گرم) انتخاب شدند. آنها به‌طور تصادفی به ۱۲ گروه ۸ تایی تقسیم شدند: گروه‌های کنترل نرمال سالیین (۱۰ ml/kg) را دریافت نموده و گروه‌های تحت درمان دوزهای مختلف مورفین (۱۰، ۵ و ۲/۵ mg/kg) و ویتامین C (۳۰، ۵ و ۱ mg/kg) را به تنهایی و همراه با مورفین دریافت کردند. در این آزمایش از روش ۶ روزه متوالی؛ شامل سه مرحله جداگانه پیش شرطی، شرطی شدن و بعد شرطی شدن استفاده شد. در بخش اول، جهت تعیین القای ترجیح مکان شرطی (CPP: Conditioned Place Preference) یا تنفر مکان شرطی (CPA: Conditioned Place Aversion) موش‌ها در مرحله شرطی‌سازی و بعد شرطی شدن، دوزهای مختلف ویتامین C را دریافت نمودند. در بخش دوم، موش‌ها بعد شرطی‌سازی با مورفین (۵ mg/kg) دوزهای مشابه ویتامین C را جهت تعیین تأثیر آنها روی بیان ترجیح مکان شرطی مورفین دریافت نمودند. نتایج با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و نرم‌افزار SPSS ۱۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف مورفین (۱۰ و ۵ mg/kg) سبب القای CPP (به ترتیب برابر با $112/06 \pm 14/44$ و $128/65 \pm 16/12$ ثانیه) در مقایسه با گروه کنترل ($9/34 \pm 2/04$ - ثانیه) می‌شود ($P < 0/001$). تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف ویتامین C به تنهایی یا CPP یا CPA معناداری ایجاد نکرده؛ ولی این ویتامین (۳۰ و ۵ mg/kg)؛ به ترتیب $P < 0/001$ و $P < 0/01$ در مصرف توأم با مورفین سبب القای CPP شبه مورفینی (به ترتیب برابر با $80/04 \pm 9/61$ و $56/45 \pm 13/52$ ثانیه) می‌شود.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دوزهای پایین ویتامین C احتمالاً با اثر آگونیستی روی سیستم‌های دوپامینرژیک و گلوتاماترژیک سبب القای CPP شبه مورفینی می‌شود. (مجله دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۱۹/شماره ۲/صص ۱۷۲-۱۶۴).

واژه‌های کلیدی: اسید اسکوربیک، مورفین، شرطی‌سازی، موش سوری.

مقدمه

اعتیاد دارویی نوعی بیماری مزمن و عودکننده مغزی است؛ که با رفتار وسواسی جهت جست و جو و مصرف دارو، تلاش‌های مستمر و ناموفق در کاهش مصرف آن (که همگی عواقب منفی به دنبال دارند مشخص می‌شود (۱,۲).

اوپیوئیدها به تمامی آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌هایی که فعالیت شبه مورفین را دارا می‌باشند؛ گفته می‌شود. امروزه با این‌که از اوپیوئیدها (مثل مورفین) به‌طور بالینی جهت درمان درد استفاده می‌شود، اما با این حال مشکل عمده ناشی از مصرف مزمن آنها، تحمل و وابستگی به آنها می‌باشد. به‌علاوه مصرف طولانی مدت اوپیوئیدها سبب وابستگی فیزیولوژیک و جسمی خطرناکی شده که این عوامل سبب محدود شدن کاربرد اوپیوئیدها و از طرفی تأثیر مضر آنها در جامعه می‌شود. بر این اساس تحقیق روی مکانیسم نورویولوژیک و درمان وابستگی به اوپیوئیدها از اهمیت بیشتری برخوردار می‌باشد (۳). در همین راستا مطالعات مختلف نشان داده - است بیشتر نواحی که در اعتیاد به اوپیوئیدها نقش دارند شامل لوکوس سرلئوس (Locus ceruleus: LC)، تالاموس میانی، هیپوتالاموس، آمیگدال، ناحیه تگمنتوم شکمی (Ventral Tegmental Area: VTA)، هسته آکومبنس (Nucleus Accumbens: NAc) و هسته سیاه می‌باشند. در بین این نواحی، VTA و NAc اجزای مهم سیستم دوپامینی مزولیمبیک را تشکیل می‌دهد؛ و معتقدند که هر دو ناحیه نقشی کلیدی در وساطت فرآیندهای تقویت‌کننده (پاداشی) اوپیوئیدها و سایر داروهای اعتیادآور ایفا می‌کنند (۶-۷). به‌طوری‌که نشان داده‌اند که مورفین با فعال کردن گیرنده‌های مو (μ) اوپیوئیدی سبب تسهیل در آزادسازی دوپامین و بروز اثرات تقویت‌کننده می‌شود (۷,۸). از سوی دیگر بسیاری از شواهد مشخص نموده است که ورودی گلوتامات در ناحیه تگمنتوم شکمی، نقش مهمی در تنظیم انتقال

دوپامینرژیک ایفا می‌کند؛ و تحریک گیرنده‌های گلوتامات موجود در VTA، سبب تحریک در آزادسازی دوپامین در NAc می‌شود (۹).

ویتامین C (اسکوربیک اسید)، یک ویتامین آنتی-اکسیدان و محلول در آب است؛ که در بسیاری از واکنش‌های فیزیولوژیک بدن نقش دارد (۱۰). در pH فیزیولوژیک اسکوربیک اسید به شکل آنیون تک ظرفیتی و فرم آندوژن خود به نام اسکوربات وجود دارد (۱۱). مطالعات مختلف نشان داده است که در ترانس‌میشن دوپامین و گلوتامات، اسکوربات به‌عنوان مدولاتور در مغز عمل می‌کند (۱۲-۱۰).

ترجیح مکان شرطی (CPP) روشی رفتاری است که از آن به‌طور گسترده‌ای جهت اندازه‌گیری اثرات تقویت‌کننده و پاداشی داروهای مختلف چون اوپیوئیدها در موش‌های سوری و صحرایی استفاده می‌شود (۱۳). با توجه به این‌که مطالعات قبلی به اثر ویتامین C روی علائم سندرم محرومیت و خود تجویزی مورفین و یا تأثیر آن بر بیان ترجیح مکان شرطی ناشی از آمفتامین و نیکوتین پرداخته‌اند (۱۷-۱۴) و تاکنون مطالعه‌ای روی تأثیر این ویتامین روی CPP ناشی از مورفین صورت نگرفته است؛ از این‌رو هدف مطالعه حاضر بررسی اثر ویتامین C بر بیان ترجیح مکان شرطی مورفین در موش سوری نر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۹ و در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه انجام شد. در آن از ۹۶ سر موش سوری نر نژاد NMRI در محدوده وزنی ۲۰ الی ۳۰ گرم استفاده شد. حیوانات تا زمان آزمایش در قفس‌های استاندارد و شرایط یکسان یعنی دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته (شروع روشنایی ۸ صبح و تاریکی ۸ شب) و محیطی با رطوبت تحت کنترل و دمای 22 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. موش‌ها به استثنای زمان

جعبه توسط کورنومتر (برحسب ثانیه) ثبت شد، تا بخش کم‌تر ترجیحی (مکانی که در آن حیوان کم‌تر باقی می‌ماند). جعبه برای هر موش مشخص شود.

ب- مرحله شرطی شدن: این مرحله چهار روز متوالی بود. در این مرحله و طی روزهای دوم و چهارم موش‌ها در بخش کم‌تر ترجیحی به میزان مورفین گرفته و به مدت ۳۰ دقیقه حبس شدند؛ در خلال روزهای سوم و پنجم، موش‌ها در بخش بیشتر ترجیحی (مکانی که در آن حیوان بیشتر باقی می‌ماند) نرمال‌سالین را (۱۰ ml/kg) اخذ نموده و به مدت ۳۰ دقیقه حبس شدند.

ج- مرحله پس از شرطی شدن: در این مرحله (روز ششم) موش‌ها به صورت تصادفی و به گروه‌های تحت درمان و کنترل ۸ تایی تقسیم‌بندی شدند. گروه‌های مورد استفاده در این آزمایش عبارت بودند از:

۱- گروه کنترل (نرمال سالین): سه گروه از موش‌ها طی مرحله شرطی شدن و بعد شرطی شدن، به جای دوزهای مختلف مورفین نرمال سالین را با دوز ۱۰ ml/kg دریافت نمودند.

۲- گروه دوزهای مختلف مورفین: سه گروه از موش‌ها، دوزهای مختلف مورفین (۱۰، ۵ و ۲/۵) (۲۰) را جهت القای ترجیح مکان شرطی و در طی مرحله شرطی شدن و بعد شرطی شدن دریافت نمودند.

۳- گروه دوزهای مختلف ویتامین C بدون حضور مورفین: در سه گروه دیگر دوزهای مختلف ویتامین C (۳۰، ۵ و ۱) (۳۰) به تنهایی و طی مرحله شرطی-ساز (به جای مورفین) و بعد شرطی شدن جهت تعیین القای ترجیح مکان شرطی و یا تنفر مکان شرطی (CPA) ناشی از آن دریافت نمودند.

۴- گروه دوزهای مختلف ویتامین C به همراه مورفین: سه گروه دیگر نیز بعد شرطی‌سازی با مورفین (۳۰ mg/kg)، دوزهای مشابه ویتامین C را در مرحله بعد شرطی شدن دریافت نمودند. در مرحله بعد شرطی شدن نیز پس از برداشتن صفحات کشویی و ۱۰ دقیقه اجازه حرکت

آزمایشات دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند. از هر حیوان فقط یک‌بار استفاده شد. تمام آزمایشات در دوره ۱۲ ساعته روشنایی صورت گرفت. در این مطالعه، اصول اخلاقی مطابق قوانین حمایت و نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی و بیانیه‌های دانشگاه علوم پزشکی ارومیه رعایت شد.

در این بررسی از سولفات مورفین (شرکت تمار، ایران) و ویتامین C (شرکت داروسازی حکیم، ایران) استفاده گردید. هر دو دارو در نرمال سالین ۰/۹ درصد حل شده و تمام تزریقات به شکل داخل صفاقی و با حجم تزریق ۱۰ ml/kg تزریق شدند.

جعبه مخصوص CPP

در این تحقیق از جعبه CPP مخصوص و Plexiglas که دارای سه قسمت جداگانه به ابعاد ۸۸×۳۶×۳۴ سانتی‌متر بود؛ استفاده شد. دو قسمت اصلی آن مساوی و به ابعاد ۳۹×۳۶×۳۴ سانتی‌متر بود. دیواره یکی از آن قسمت‌ها خاکستری رنگ و کف خاکستری صاف و بخش دیگر دیواره‌ای با پوشش نوارهای سیاه و سفید (به پهنای ۲ سانتی‌متر) و کف سفیدرنگ صاف داشت. قسمت سوم جعبه از یک سکوی سفید با دیواره‌های سفیدرنگ به ابعاد ۱۰×۳۶×۳۴ سانتی‌متر تشکیل شده و این سکو ۲ سانتی‌متر بالاتر از بخش‌های دیگر بود.

صفحه کشویی از دو بخش اصلی جدا بود. طی مرحله شرطی شدن بخش‌های جعبه به وسیله این صفحات از هم جدا شدند (۱۸). در این مطالعه از روش آزمایش ۶ روزه متوالی و به روش Unbiased استفاده گردید. مراحل کار شامل ۳ مرحله به ترتیب زیر بود:

الف- مرحله پیش‌شرطی: در نخستین روز آزمایش، بعد از برداشتن صفحات کشویی، هر یک از موش‌ها به طور جداگانه به مدت ۱۰ دقیقه در جعبه قرار گرفته و به آنها اجازه داده شد که به‌طور آزادانه در همه قسمت‌های جعبه حرکت کنند و مدت زمان سپری شده برای هر قسمت از

چون دوز ۵ mg/kg مورفین بهترین القا را ایجاد نمود؛ لذا در مرحله شرطی سازی از این دوز جهت شرطی سازی و مطالعه تأثیر دوزهای مختلف ویتامین C استفاده گردید. تزریق داخل صفاقی نرمال سالین در گروه های کنترل، ترجیح یا تنفر مکان معناداری را ایجاد نمود. تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف ویتامین C (۳۰ و ۵ و ۱) به تنهایی (بدون حضور مورفین) (به ترتیب برابر با $۲۱/۰۵ \pm ۸/۰۹$ و $۲۶/۱۸ \pm ۹/۴۸$ و $۳۹/۲۵ \pm ۱۳/۵۵$ ثانیه) و در مقایسه با گروه کنترل ($۱۰/۸ \pm ۲/۷۳$ ثانیه) سبب القای ترجیح یا تنفر مکان شرطی معناداری نشد ($p=۰/۳۲$) (نمودار ۲)؛ ولی تجویز این ویتامین (۳۰ و ۵) به همراه مورفین به صورت معناداری (به ترتیب برابر با $۸۰/۰۴ \pm ۹/۶۱$ و $۵۶/۴۵ \pm ۱۳/۵۲$ ثانیه) باعث القای CPP شبه مورفینی در مقایسه با گروه کنترل ($۱۰/۷۲ \pm ۳/۴۵$ - ثانیه) گردید (به ترتیب $p=۰/۰۰۰$ و $p=۰/۰۰۶$) (نمودار ۳).

بحث

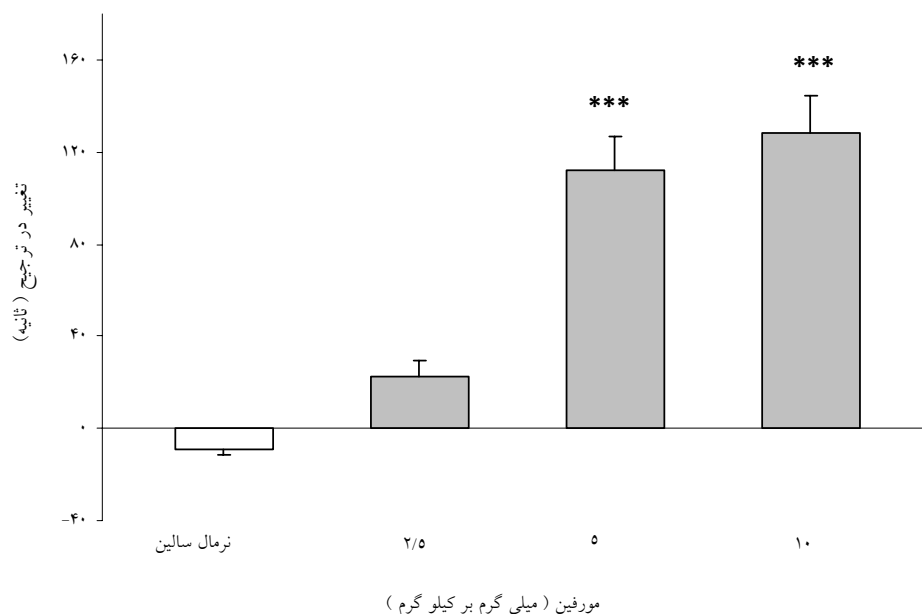
نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مورفین به صورت وابسته به دوز سبب القای CPP می شود. ویتامین C به

آزادانه به حیوان، مدت زمان سپری شده در هر بخش جعبه ثبت گردید. (۱۹,۲۰).

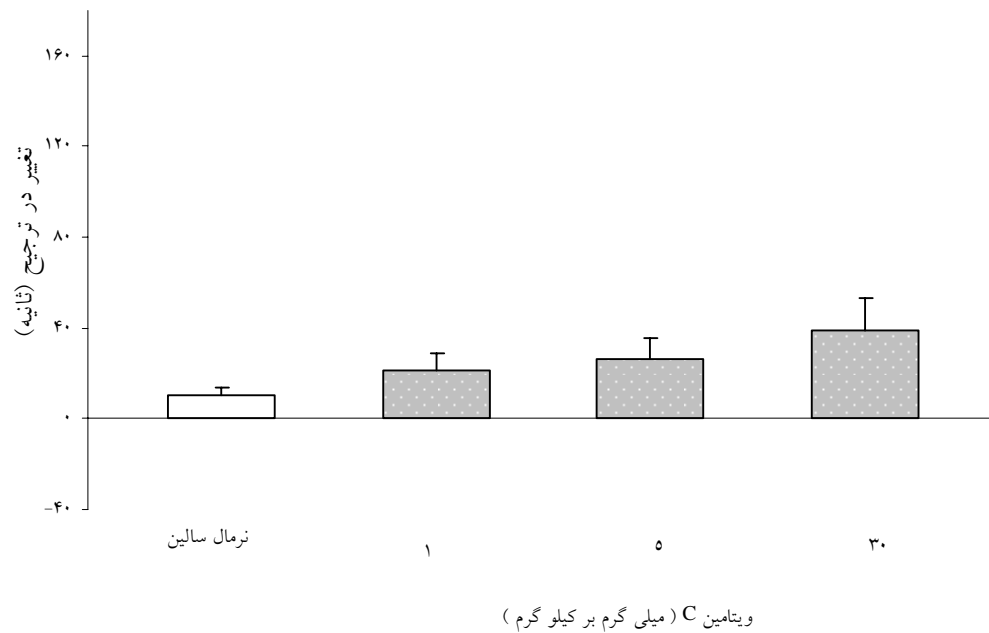
از تفاضل زمان های سپری شده روز آزمایش در بخش کم تر ترجیحی (در بخشی که حیوان دارو دریافت می نمود) و زمانی که حیوان در فاز پیش شرطی در این بخش سپری نمود، تغییر در ترجیح (Change in preference) محاسبه شد و به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان گردید. داده ها بر اساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و در صورت وجود تفاوت معنادار از طریق آزمون توکی مطالعه شده و از برنامه آماری SPSS ۱۵ جهت تجزیه و تحلیل استفاده گردید و در هر مورد $P < ۰/۰۵$ معنادار تلقی شد (۲۱).

یافته ها

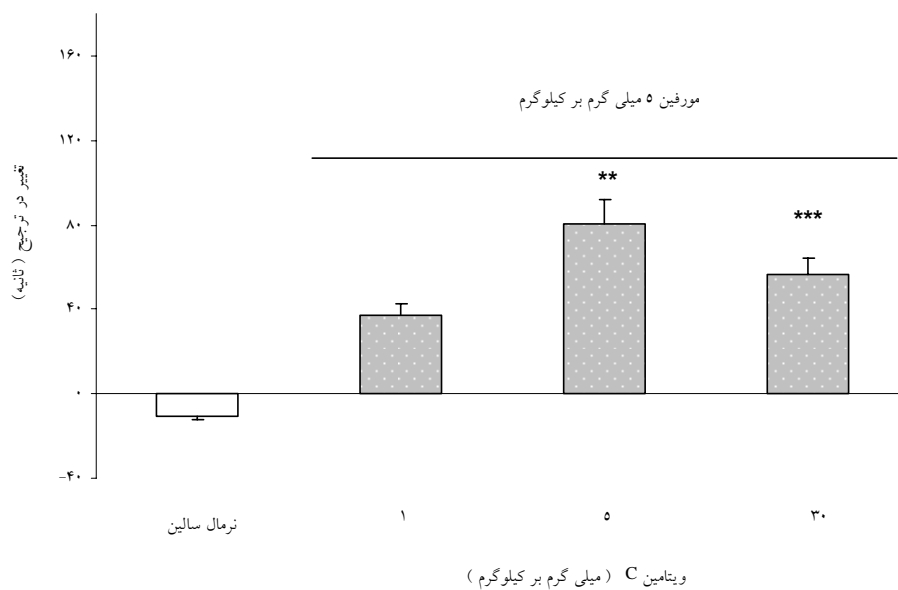
تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف مورفین (۱۰ و ۵ mg/kg) در مقایسه با گروه کنترل ($۹/۳۴ \pm ۲/۰۴$ ثانیه) به صورت وابسته به دوز و معناداری (به ترتیب برابر با $۱۱۲/۰۶ \pm ۱۴/۴۴$ و $۱۲۸/۶۵ \pm ۱۶/۱۲$ ثانیه) سبب القای CPP گردید ($p=۰/۰۰۰$) (نمودار ۱).



نمودار ۱: القای ترجیح مکان شرطی ناشی از تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف مورفین در موش سوری. هر نمودار به صورت میانگین \pm انحراف معیار برای ۸ سر موش سوری ارائه شده است. *** نشان دهنده $P < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) می باشد.



نمودار ۲: القای ترجیح مکان شرطی ناشی از تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف ویتامین C به تنهایی در موش سوری. هر نمودار به صورت میانگین \pm انحراف معیار برای ۸ سر موش سوری در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) می‌باشد.



نمودار ۳: اثر تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف ویتامین C بر روی بیان CPP ناشی از مورفین در موش سوری. هر نمودار به صورت میانگین \pm انحراف معیار برای ۸ سر موش سوری ارائه شده است. *** به ترتیب برابر $P < 0.01$ و $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) می‌باشند.

سوری می‌شود (۲۰، ۲۱). همچنین مطالعه‌ای دیگر نشان داده است که ویتامین C به تنهایی سبب القای CPP معنادار و آزادسازی دوپامین نمی‌شود؛ که این یافته‌ها با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارند (۱۶، ۱۷). همچنین همسو با نتایج مطالعه

تنهایی سبب القای CPP یا CPA معنادار نشد ولی این ویتامین در مصرف توأم با مورفین، سبب القای CPP شبه مورفینی می‌شود. دیگر مطالعات همسو با این یافته‌ها نشان می‌دهد که مورفین به صورت وابسته به دوز و معناداری سبب القای ترجیح مکان شرطی در موش‌های

می‌کند (۳۱). در همین راستا مطالعه دیگری مشخص کرده است که ویتامین C با وساطت گیرنده‌های دوپامینی D2 دارای اثر ضد افسردگی می‌باشد. به طوری که در تأیید این سولپراید سبب بلوک اثر ضد افسردگی این ویتامین شده ولی SCH23390 (آنتاگونیست گیرنده D1 دوپامینی) قادر به بلوک اثر ضد افسردگی آن نمی‌باشد (۳۲). بررسی دیگری نشان می‌دهد که ویتامین C با وساطت گیرنده‌های D2 دوپامینی سبب کاهش دریافت غذا در موش‌ها می‌شود (۳۳).

فرزین نیز در مطالعه خود با نتایج مشابهی نشان داد که ویتامین C با وساطت گیرنده‌های D2 دوپامینی سبب کاهش رفتار لیس زدن القا شده توسط آپومورفین می‌شود (۳۴).

تمام این یافته‌ها موافق با نتایج مطالعه حاضر است؛ و نشان می‌دهند که ویتامین C عمدتاً با وساطت گیرنده‌های D2 دوپامینی سیستم دوپامینی مزولیمبیک را متأثر می‌کند. از سویی دیگر گزارش شده است که اسکوربات از نورون‌های گلوتاماترژیک آزاد شده و در این بین ترانسپورتر گلوتامات، اسکوربات را به گلوتامات تبدیل می‌کند (۱۰). علاوه بر این، تحریک گیرنده‌های گلوتامات موجود در VTA، خود به طور غیر مستقیم و با وساطت نورون‌های دوپامینرژیک سبب تسهیل پاداش اوپیوئیدها می‌شود (۳۵).

بنابراین بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر و همسو با سایر مطالعات احتمالاً دوزهای پایین ویتامین C با اثر آگونیستی بر روی سیستم دوپامینرژیک و گلوتاماترژیک سبب القا CPP شبه مورفینی می‌شود. با این حال در مطالعات بعدی بررسی تأثیر دوزهای بالای این ویتامین روی ترجیح مکان شرطی مورفین و همچنین بررسی اثربخشی این ویتامین روی CPP سایر اوپیوئیدها (از جمله هروئین) و داروهای اعتیادآور پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی

حاضر، نشان داده‌اند که این ویتامین در مصرف توأم با آمفتامین، سبب تقویت CPP ناشی از آمفتامین و آزاد سازی دوپامین می‌شود (۱۶).

مطالعات مختلف مشخص نموده‌اند که سیستم دوپامینرژیک مزولیمبیک نقش مهمی در القای ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین ایفا می‌کند (۲۲،۲۳). سایر مطالعات نشان داده‌اند که در بین گیرنده‌های مختلف دوپامینی (خانواده D1 و D2)، گیرنده‌های D2 به طور مستقیم و قدرتمندی سبب افزایش غلظت دوپامین خارج سلولی شده و دارای نقشی مهم در کسب (Acquisition) و بیان (Expression) ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین می‌باشند (۲۴،۲۵). در تأیید این فرضیه، تجویز سولپراید (آنتاگونیست گیرنده D2 دوپامینی) سبب بلوک اثر تقویت‌کننده (پاداش) و CPP ناشی از مورفین می‌شود (۲۶).

علاوه بر این تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند که ورودی گلوتامات وارده به ناحیه تگمتموم شکمی سبب افزایش فعالیت سیستم دوپامینرژیک و آزادسازی دوپامین می‌شود (۲۷). به عبارتی گیرنده‌های گلوتامات (N-Methyl-D-Aspartate, NMDA) موجود در ناحیه تگمتموم شکمی و هسته آکومبوس جهت بیان CPP مورفین ضروری می‌باشند به طوری که در تأیید این مسأله، تجویز سیستمیک آنتاگونیست‌های گیرنده NMDA سبب بلوک کسب و بیان CPP ناشی از مورفین می‌شوند (۲۸،۲۹).

ویتامین C (اسکوربیک اسید) یک ویتامین آنتی-اکسیدانی است؛ که از انتهای نورون‌های گلوتاماترژیک آزاد می‌شود و فعالیت سیناپسی دوپامین و گلوتامات را تنظیم می‌کند. هرچند، برخی از مطالعات نشان می‌دهد که تأثیر اسکوربات روی سیستم دوپامینی وابسته به دوز می‌باشد. به طوری که این ویتامین در دوزهای پایین سبب تقویت سیستم دوپامینی شده (۳۰) ولی برعکس در دوزهای زیاد به عنوان آنتاگونیست سیستم دوپامینی عمل

واحد ارومیه (با شماره طرح ۵۱۰۳۱۸۷۰۴۲۱۰۰۲) به
 معاونت پژوهشی دانشگاه به‌خاطر حمایت مالی نهایت
 انجام رسیده است. بدین‌وسیله نویسندگان این مقاله از
 تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Koob GF, Ahmed SH, Boutrel B, Chen SA, Kenny PJ, Markou A, et al. Neurobiological mechanisms in the transition from drug use to drug dependence. *Neurosci Biobehav Rev.* 2004;27(8):739-49.
2. Gass JT, Olive MF. Glutamatergic substrates of drug addiction and alcoholism. *Biochem Pharmacol.* 2008; 75(1): 218-65.
3. van Ree JM, Gerrits MA, Vanderschuren LJ. Opioids, reward and addiction: An encounter of biology, psychology, and medicine. *Pharmacol Rev.* 1999;51(2):341-96.
4. Nestler EJ, Aghajanian GK. Molecular and cellular basis of addiction. *Science.* 1997; 278 (5335): 58-63
5. Ivanov A, Aston-Jones G. Local opiate withdrawal in locus coeruleus neurons in vitro. *J Neurophysiol.* 2001;85(6):2388-97.
6. Koob GF. Neuroadaptive mechanisms of addiction: studies on the extended amygdala. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2003;13(6):442-52.
7. Benloucif S, Keegan MJ, Galloway MP. Serotonin-facilitated dopamine release in vivo: pharmacological characterization. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993;265(1):373-7.
8. Pierce RC, Kumaresan V. The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse? *Neurosci Biobehav Rev.* 2006;30(2):215-38.
9. Tzschentke TM, Schmidt WJ. Functional relationship among medial prefrontal cortex, nucleus accumbens, and ventral tegmental area in locomotion and reward. *Crit Rev Neurobiol.* 2000;14(2):131-42.
10. 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;43(6):537-65.
11. Rice ME. Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain. *Trends Neurosci.* 2000;23(5):209-16.
12. Grünwald RA. Ascorbic acid in the brain. *Brain Res Brain Res Rev.* 1993;18(1):123-33.
13. McIntyre CK, Ragozzino ME, Gold PE. Intra-amygdala infusions of scopolamine impair performance on a conditioned place preference task but not a spatial radial maze task. *Behav Brain Res.* 1998;95(2):219-26.
14. Esmaili MH, Alaei H, Nasimi A, Japhary MR, Dodangeh E. The effect of ascorbic acid on I.V. self administration of morphine in rats. *J Qazvin Univ Med Sci.* 2003;27:10-16. (Persian)
15. Esmaili 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. *J Qazvin Univ Med Sci.* 2009;13(1):21-28. (Persian)
16. Pierce RC, Rowlett JK, Rebec GV, Bardo MT. Ascorbate potentiates amphetamine-induced conditioned place preference and forebrain dopamine release in rats. *Brain Res.* 1995;688(1-2):21-6.
17. Sahraei H, Aliabadi AA, Zarrindast MR, Ghoshooni H, Nasiri A, Barzegari-Sorkheh AA, et al. Ascorbic acid antagonizes nicotine-induced place preference and behavioral sensitization in mice. *Eur J Pharmacol.* 2007;560(1):42-8.
18. Subhan F, Deslandes PN, Pache DM, Sewell RD. Do antidepressants affect motivation in conditioned place preference? *Eur J Pharmacol.* 2000;408(3):257-63.
19. Samini M, Kardan A, Mehr SE. Alpha-2 agonists decrease expression of morphine-induced conditioned place preference. *Pharmacol Biochem Behav.* 2008;88(4):403-6.
20. Zarrindast MR, Bahreini T, Adl M. Effect of imipramine on the expression and acquisition of morphine-induced conditioned place preference in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 2002;73(4):941-9.
21. Maleki SA, Samini M, Babapour V, Mehr SE, Cheraghiyan S, Nouri MH. Potentiation of morphine-induced conditioned place preference with concurrent use of amantadine and fluvoxamine by the intraperitoneal and intracerebroventricular injection in rat. *Behav Brain Res.* 2008;190(2):189-92.
22. Wise RA. Drug-activation of brain reward pathways. *Drug Alcohol Depend.* 1998;51(1-2):13-22.
23. Ribeiro Do Couto B, Aguilar MA, Manzanedo C, Rodríguez-Arias M, Miñarro J. Reinstatement of morphine-induced conditioned place preference in mice by priming injections. *Neural Plast.* 2003;10(4):279-90.

24. Rezaيوف A, Zarrindast MR, Sahraei H, Haeri-Rohani AH. Involvement of dopamine D2 receptors of the central amygdala on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 2002;74(1):187-97.
25. Rouge-Pont F, Usiello A, Benoit-Marand M, Gonon F, Piazza PV, Borrelli E. Changes in extracellular dopamine induced by morphine and cocaine: crucial control by D2 receptors. *J Neurosci.* 2002;22(8):3293-301.
26. Manzanedo C, Aguilar MA, Rodríguez-Arias M, Miñarro J. Effects of dopamine antagonists with different receptor blockade profiles on morphine-induced place preference in male mice. *Behav Brain Res.* 2001;121(1-2):189-97.
27. Tzschentke TM. Pharmacology and behavioral pharmacology of the mesocortical dopamine system. *Prog Neurobiol.* 2001;63(3):241-320.
28. Tzschentke TM, Schmidt WJ. N-methyl-D-aspartic acid-receptor antagonists block morphine-induced conditioned place preference in rats. *Neurosci Lett.* 1995;193(1):37-40.
29. Kim HS, Jang CG, Park WK. Inhibition by MK-801 of morphine-induced conditioned place preference and postsynaptic dopamine receptor supersensitivity in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 1996;55(1):11-7.
30. Pierce RC, Rebec GV. Iontophoresis in the neostriatum of awake, unrestrained rats: differential effects of dopamine, glutamate and ascorbate on motor- and nonmotor-related neurons. *Neuroscience.* 1995;67(2):313-24.
31. Kiyatkin EA, Rebec GV. Heterogeneity of ventral tegmental area neurons: single-unit recording and iontophoresis in awake, unrestrained rats. *Neuroscience.* 1998;85(4):1285-309.
32. Binfaré RW, Rosa AO, Lobato KR, Santos AR, Rodrigues AL. Ascorbic acid administration produces an antidepressant-like effect: evidence for the involvement of monoaminergic neurotransmission. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2009;33(3):530-40.
33. Badreh F, Abbasnejad M, Derakhshani A, Jonaidi H. Interaction between ascorbic acid and dopamine D₂ receptors in the nucleus accumbens shell in response to feeding. *Inter J Biol Chem.* 2009;3(4):132-41.
34. Farzin D, Khani H, Ehteshami S. The effect of ascorbic acid on apomorphine-induced licking behavior in rat. *J Mazandaran Univ Med Sci.* 2005; 46:1-8. (Persian)
35. Sesack SR, Pickel VM. Prefrontal cortical efferents in the rat synapse on unlabeled neuronal targets of catecholamine terminals in the nucleus accumbens septi and on dopamine neurons in the ventral tegmental area. *J Comp Neurol.* 1992;320(2):145-60.

Archived SID

The effect of vitamin C on expression of morphine-induced conditioned place preference in male mice

Abbasi Maleki S., Ph.D

Assistant Professor, Department of Pharmacology, School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Urmia Branch, Urmia, Iran.

Najafi Gh., MSc

Instructor, Department of Physiology, School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Urmia Branch, Urmia, Iran.

Eftekhari SK., MSc

Student of Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Urmia Branch, Urmia, Iran.

Received:24/12/2012, Revised:11/03/2012, Accepted:09/04/2012

Corresponding author:

Dr. Saeid Abbasi Maleki,
Department of Pharmacology,
School of Veterinary Medicine,
Islamic Azad University, Campus
No. 3, Salmas Road, Urmia, Iran.
E-mail: s_am65@yahoo.com

Abstract

Background and purpose: Dopaminergic and glutamatergic systems play a critical role in expression of morphine-induced place conditioning, while vitamin C, released from glutamatergic neurons, modulates the synaptic action of dopamine and glutamate. This study investigated the effect of vitamin C on expression of morphine-induced place conditioning in male mice.

Materials and methods: In this experimental study, 96 male NMRI mice (20-30g) were randomly divided into 12 groups of 8: control groups received normal saline (10 ml/kg) and treatment groups received morphine (2.5, 5, and 10 mg/kg) and vitamin C (1, 5, and 30 mg/kg) alone and with morphine. The study took place on six consecutive days, consisting of three phases: preconditioning, conditioning, and postconditioning. In the first set, vitamin C alone were administered in conditioning and postconditioning phases to see if they induced conditioned place preference (CPP) or aversion (CPA). In the second set, mice received vitamin C in postconditioning phase after conditioning with morphine.

Results: Different doses of morphine (5 and 10 mg/kg, $p < 0.001$) induced CPP (112.06 ± 14.44 and 128.65 ± 16.12 sec, respectively) compared to control group (-9.34 ± 2.04 sec). Different doses of vitamin C alone did not induce any significant CPP or CPA. However, coadministration of vitamin C (5 and 30 mg/kg; $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively) with morphine (5 mg/kg) significantly induced morphine-like CPP (80.4 ± 9.61 and 56.45 ± 13.52 sec, respectively).

Conclusion: Low doses of vitamin C induced morphine-like CPP probably by agonistic action on dopaminergic and glutamatergic systems. Therefore, this vitamin may be useful for controlling compulsive drug-seeking behavior in morphine addicts. (*Quarterly Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, Volume 19, Number 2, pp.164-172*).

Keywords: Ascorbic Acid, Morphine, Conditioning, Mice