

اثر اسید اسکوربیک بر خودتزیقی هروین در موش سفید بزرگ آزمایشگاهی

احسان دودانگه^{۱*} (M.Sc)، محمدرضا جعفری^۱ (M.D)، حجت‌اله علایی^۱ (Ph.D)،
علی نسیمی^۱ (Ph.D)، محمدحسین اسماعیلی^۲ (M.Sc)

۱ - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

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

خلاصه

سابقه و هدف: در ایجاد وابستگی به مواد مخدر سیستم‌های گلوتامینرژیک و دوپامینرژیک مغز اهمیت زیادی دارد. گزارش شده که اسید اسکوربیک به عنوان یک میانجی عصبی از انتهای نورون‌های گلوتامینرژیک ترشح شده و مقدار آزاد شدن اسید گلوتامیک و دوپامین را تنظیم می‌کند. هدف از مطالعه حاضر این بوده که آیا اسید اسکوربیک قادر است ایجاد وابستگی به هروین را به تأخیر انداخته و یا از بین ببرد؟

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار و با وزن 30 ± 300 گرم انتخاب شدند و به روش جراحی، در ورید ژوگولار آنها یک کانول کوچک جایگذاری و ادامه کانول از زیر پوست گردن هدایت شد و در پشت سر حیوان به استخوان جمجمه محکم گردید. مطالعه در سه گروه سالی، هروین و اسید اسکوربیک انجام شد. پس از طی دوره بهبودی به مدت ۴ روز، از طریق روش خودتزیقی وریدی، سالی یا هروین هیدروکلراید با غلظت 1 mg/ml به حیوان داده شد (زمان خلاصی = ۱۰ ثانیه، $\text{FR} = 1, 0.1 \text{ mg/infusion}$). در گروه اسید اسکوربیک، ۳۰ دقیقه قبل از خودتزیقی هروین مقدار 300 mg/kg اسید اسکوربیک به شکل داخل صفاقی تزریق و اثر آن بر خودتزیقی هروین بررسی شد. روش گرفتن هروین، فشار دادن پدال مخصوصی بود که در قفس خودتزیقی تعبیه شده بود و تعداد پدال‌های فشرده شده در مدت ۲ ساعت از طریق فیزیوگراف ثبت و در روزهای مختلف و گروه‌های مختلف با هم مقایسه شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بین تعداد پدال‌های غیرفعال در سه گروه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ولی تعداد پدال‌های فعال در تمامی گروه‌ها با هم تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0.001$).

نتیجه‌گیری: اسید اسکوربیک، پدیده بروز وابستگی به هروین را به تأخیر انداخته و تمایل حیوان به خودتزیقی را کاهش می‌دهد. با مطالعه دقیق‌تر احتمالاً می‌توان از اسید اسکوربیک در جلوگیری از ایجاد اعتیاد به مواد مخدر و درمان اعتیاد در انسان استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: خودتزیقی، هروین، اسید اسکوربیک، اعتیاد، موش سفید بزرگ آزمایشگاهی

مقدمه

فیزیولوژی و فارماکولوژی، بشر توانسته از داروهای زیادی برای مقابله با اعتیاد به مواد مخدر استفاده کند که

در سال‌های اخیر با پیشرفت علم مخصوصاً

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۳۱۱-۷۹۲۲۴۳۳، نمابر: ۰۳۱۱-۷۹۲۲۴۳۳

مطالعات زیادی نشان می‌دهند که دوپامین و اسیدهای آمینه تحریکی نظیر گلوتامات و آسپاراتات نقش مهمی در ایجاد وابستگی به مواد مخدر و سندرم محرومیت (Withdrawal) دارد [۲۳، ۹، ۶].

اسید اسکوربیک (ویتامین C) به عنوان یک ویتامین محلول در آب سال‌ها پیش شناخته شده و در واکنش‌های بیوشیمیایی زیادی دخالت دارد. ویتامین C به عنوان آنتی‌اکسیدان و کوفاکتور بعضی از آنزیم‌ها ایفای نقش می‌کند. اخیراً نقش میانجی عصبی و نورومدولاتور نیز برای آن مطرح شده است. در بدن پستانداران اسید اسکوربیک بیش از همه بافت‌ها، در مغز تجمع یافته است [۲۳، ۳]. همچنین مشخص شده که افزایش اسیدهای آمینه تحریکی گلوتامات و آسپاراتات در مواقع بحرانی مثل ترک اعتیاد موجب تخریب نرون‌های مغزی می‌شود و افزایش همزمان اسید اسکوربیک از آسیب‌های وارده جلوگیری می‌کند [۱۷، ۱۹]. اسید اسکوربیک از انتهای نرون‌های گلوتامینرژیک و دوپامینرژیک مغز آزاد می‌شود و سیستم‌های گلوتامینرژیک و دوپامینرژیک، میزان آزاد شدن آن را تنظیم می‌کنند و به نظر می‌رسد فعالیت این دو سیستم به نوبه خود به وسیله اسید اسکوربیک تنظیم می‌شود و در کل، این طور به نظر می‌رسد که اسید اسکوربیک برای این دو سیستم حکم آنتاگونیست را دارد [۱۹، ۱۷، ۱۳، ۱۰].

از طرفی امروزه مشخص شده است که استفاده از آنتاگونیست‌های گلوتامات می‌تواند در درمان معتادان به مواد مخدر مؤثر باشد ولی مشکل عمده، عوارض جانبی شدید این داروهاست که استفاده از آن را محدود کرده است. استفاده از اسید اسکوربیک به عنوان آنتاگونیست طبیعی سیستم گلوتامینرژیک مفید بوده و در کلینیک می‌توان از آن در درمان معتادان به مواد مخدر استفاده نمود [۲۴، ۱۶، ۵].

همچنین تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که اسید اسکوربیک در دوز بالا می‌تواند با جلوگیری از متابولیسم شدن اپیوئیدهای داخل مغزی، درد و میزان مصرف مواد مخدر را در بیماران سرطانی کاهش دهد

توانایی این داروها در کمک به ترک اعتیاد بسیار متفاوت بوده است. از جمله این داروها می‌توان به بنزودیازپین‌ها، داروهای نورولپتیک و مواد مخدری که قدرت تقویت (Reinforcement) آنها ضعیف‌تر از بقیه مواد مخدر بوده است اشاره کرد. بنابراین، عده‌ای از متخصصین از اعتیاد جایگزین استفاده کردند مثلاً اعتیاد به مرفین را به اعتیاد کدیین تبدیل کرده و سپس در صدد ترک آن برآمدند. تقریباً تمام اقدامات صورت گرفته در جهت ترک اعتیاد بوده و خیلی کم به مسأله جلوگیری از ایجاد وابستگی به مواد مخدر پرداخته شده است. از این رو با توجه به شواهدی که توضیح داده می‌شود، در این مطالعه سعی شده که بیشتر به مسأله جلوگیری از ایجاد اعتیاد توجه شود. در ایجاد وابستگی به مواد مخدر مراکز زیادی در مغز دخیل هستند که می‌توان به ناحیه تگمنتوم شکمی (Ventral tegmental area, VTA)، هسته اکومبئس، هسته پاراژینگانوسلولاریس و لوکوس سرلئوس اشاره کرد. مشخص شده است که VTA به عنوان یکی از دو منبع مهم دوپامینرژیک مغز در خلق و خو و مراحل اعتیاد دخالت دارد. VTA یکی از مراکز مهمی است که هرویین و مرفین می‌تواند از طریق آن رفتارهای وابسته به دوپامین را تشدید کند. تزریق هرویین به درون آن در حیوان ایجاد بی‌دردی می‌کند. همچنین گزارش شده است تزریق داخل وریدی هرویین به حیوان، فعالیت نرون‌های دوپامینرژیک VTA را به شدت افزایش و تزریق نالوکسان این فعالیت‌ها را در موش‌های معتاد به شدت کاهش می‌دهد [۱۴، ۱۲، ۱۱، ۸، ۷، ۴]. VTA پیروچکشن‌های دوپامینرژیک زیادی به هسته اکومبئس دارد، که این ارتباط در پدیده تقویت، بسیار دخیل است. تزریق هرویین به صورت وریدی به حیوان باعث افزایش آزادسازی دوپامین و متابولیت‌های آن در هسته اکومبئس می‌شود، ولی چنانچه بعد از تزریق هرویین نالوکسان را به صورت دوطرفه در VTA تزریق کنیم از آزاد شدن دوپامین و متابولیت‌های آن در هسته اکومبئس جلوگیری خواهد شد [۲۱، ۱۹، ۱۵، ۱۳، ۱۲، ۶، ۲].

فیزیوگراف ثبت می‌گردد. قفس خودتزریقی مورد استفاده در این مطالعه با $FR=1$ (Fixed Ratio) تنظیم شده و زمان خلاصی آن ۱۰ ثانیه در نظر گرفته شد، یعنی؛ اگر حیوان یک بار روی پدال فعال فشار دهد به مدت ۱۰ ثانیه لامپ قرمز کوچک و پمپ پرستالتیک روشن می‌شود و اگر حیوان در طی این ۱۰ ثانیه مجدداً روی همان پدال فشار دهد تأثیری در کار پمپ و لامپ قرمز نخواهد داشت و در پایان ۱۰ ثانیه از لحظه شروع، خاموش خواهند شد. چنانچه حیوان به پدال فشار وارد کرده و آن را 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. قفس خودتزریقی مورد استفاده در این مطالعه با الگوبرداری از نمونه خارجی در گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی اصفهان ساخته شد. رت‌ها به مدت ۵ روز و در هر روز یک جلسه دو ساعته با قفس آشنا می‌شدند از طریق فشار دادن پدال فعال بسته‌های غذایی کوچک دریافت می‌کردند. بعد از آموزش اولیه، رت‌ها جراحی شدند.

روش جراحی. با استفاده از کتامین (150 mg/kg) و رامپون (1 mg/kg) با تزریق داخل صفاقی، رت‌ها بیهوش شدند [۴]. پس از تأیید بیهوشی، جلوی گردن و روی سر حیوان با استفاده از ماشین اصلاح موزر آلمانی تراشیده و پس از ضدعفونی کامل به وسیله بتادین، پوست جلوی گردن باز شد و در ورید ژوگولار سمت راست حیوان یک کانول نازک از سر به سمت قلب قرار داده شد. کانول حدود 2 cm در داخل ورید قرار گرفت. سپس با استفاده از نخ جراحی سیلک $0-4$ کانول را محکم به عضلات گردن فیکس کرده و انتهای دیگر کانول از زیر پوست عبور داده شد و از پشت سر حیوان خارج گردید. با استفاده از مته دندانپزشکی دو سوراخ در استخوان جمجمه ایجاد و دو عدد پیچ عینک استریل در آن محکم پیچ شد و با استفاده از نخ سیلک $0-3$ کانول، به پیچ‌های مذکور بسته شده و در نهایت با استفاده از سیمان دندانپزشکی، کانول روی جمجمه و پیچ‌ها محکم گردید. برای جلوگیری از ایجاد لخته و انسداد، محلول

[۱۷،۱۱]. در مطالعه دیگری مشخص شده که اسیداسکوربیک در دوز بالا موجب تخفیف علایم ترک اعتیاد در بیماران معتاد به هروین شده است [۱۶،۵]. گزارش شده است که اسید اسکوربیک در دوز کم، آزادسازی دوپامین در هسته اکومبسنس و نئواستریاتوم را به شدت افزایش می‌دهد [۲۰،۱۶،۵]. گزارش دیگری نشان می‌دهد که اسیداسکوربیک به صورت In Vitro گیرنده اپیوئیدها را تخریب می‌کند [۲۲].

با توجه به دخالت اسید اسکوربیک در ترک اعتیاد مواد مخدر و تخریب گیرنده‌های اپیوئیدی در خارج از بدن توسط اسید اسکوربیک بر آن شدیم تا نقش اسید اسکوربیک را در جلوگیری از وابستگی به هروین از طریق سیستم خودتزریقی (Self-administration) مطالعه کنیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات. موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی نر (رت) از نژاد ویستار با وزن (30 ± 300) گرم انتخاب شدند و در یک اتاق با دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته قرار گرفتند و آب و غذا آزادانه در اختیار آنها بود. روش آموزش خودتزریقی. ۵ روز قبل از جراحی، رت‌ها به اتاقک خودتزریقی منتقل شده و روزانه به مدت ۲ ساعت آموزش داده می‌شدند [۲۲]. قفس خودتزریقی ابعادی حدود $30 \times 20 \times 30 \text{ cm}$ داشت و در دو دیواره مقابل هم در داخل قفس دو پدال که از نظر ظاهری دقیقاً مثل هم هستند تعبیه شده است. فاصله پدال‌ها از کف قفس 2 cm می‌باشد. یکی از پدال‌ها، پدال فعال بوده که در صورت فشار داده شدن از طریق مدار الکتریکی پمپی را روشن می‌کند و بسته به این که چه ماده‌ای در پمپ قرار داده شده باشد آن ماده در اختیار حیوان قرار می‌گیرد. همزمان با فشردن پدال فعال یک لامپ قرمز رنگ کوچک نیز روشن شده و به یادگیری سریع تر کمک می‌کند [۲۲]. زمان روشن بودن چراغ قرمز رنگ و کارکرد پمپ، قابل تنظیم می‌باشد ولی پدال غیرفعال این خصوصیات را ندارد. در ضمن فشرده شدن هر دو پدال به وسیله

تزریق ۲ mg/kg نالوکسان به صورت داخل صفاقی علایم سندرم محرومیت بررسی شد و از آنجا که علائم اعتیاد مشاهده نشد، چهار روز دیگر آزمایش ادامه یافت و در پایان روز چهاردهم بار دیگر با تزریق ۲ mg/kg نالوکسان علایم سندرم محرومیت مطالعه شد. طول مدت یک جلسه خودتزیقی برای هر رت در تمام گروه‌ها ۲ ساعت بود.

آنالیز آماری. Mean \pm SEM تعداد پدال‌های فعال و غیرفعال در همه گروه‌ها برای همه روزهای آزمایش محاسبه شد. از طریق آزمون ANOVA repeated measures یک طرفه، میانگین داده‌ها مقایسه شد. آنالیز بعدی از طریق تست Tukey انجام شد. در هر مورد $(P < 0/05)$ معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

میانگین تعداد پدال‌های غیرفعال در گروه‌های مختلف به شرح زیر است:

$$\text{Control} = 8/28 \pm 0/55$$

$$\text{Heroin} = 7/62 \pm 0/65$$

$$\text{Ascorbate} = 7/84 \pm 0/49$$

آنالیز آماری حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار گروه‌های مختلف است.

میانگین (Mean \pm SEM) تعداد پدال‌های فعال در گروه‌های مختلف به قرار زیر است:

$$\text{Control} = 10/66 \pm 0/44$$

$$\text{Heroin} = 35/98 \pm 2/46$$

$$\text{Ascorbate} = 18/43 \pm 0/8$$

بررسی تعداد پدال‌های فعال در سه گروه حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین همه گروه‌هاست $(P < 0/001)$.

مقایسه تعداد پدال‌های فعال و غیرفعال در بین روزهای آزمایش هر گروه (شکل ۱) حاکی از تفاوت معنی‌دار بین پدال‌های فعال و غیرفعال هر سه گروه است $(P < 0/001)$.

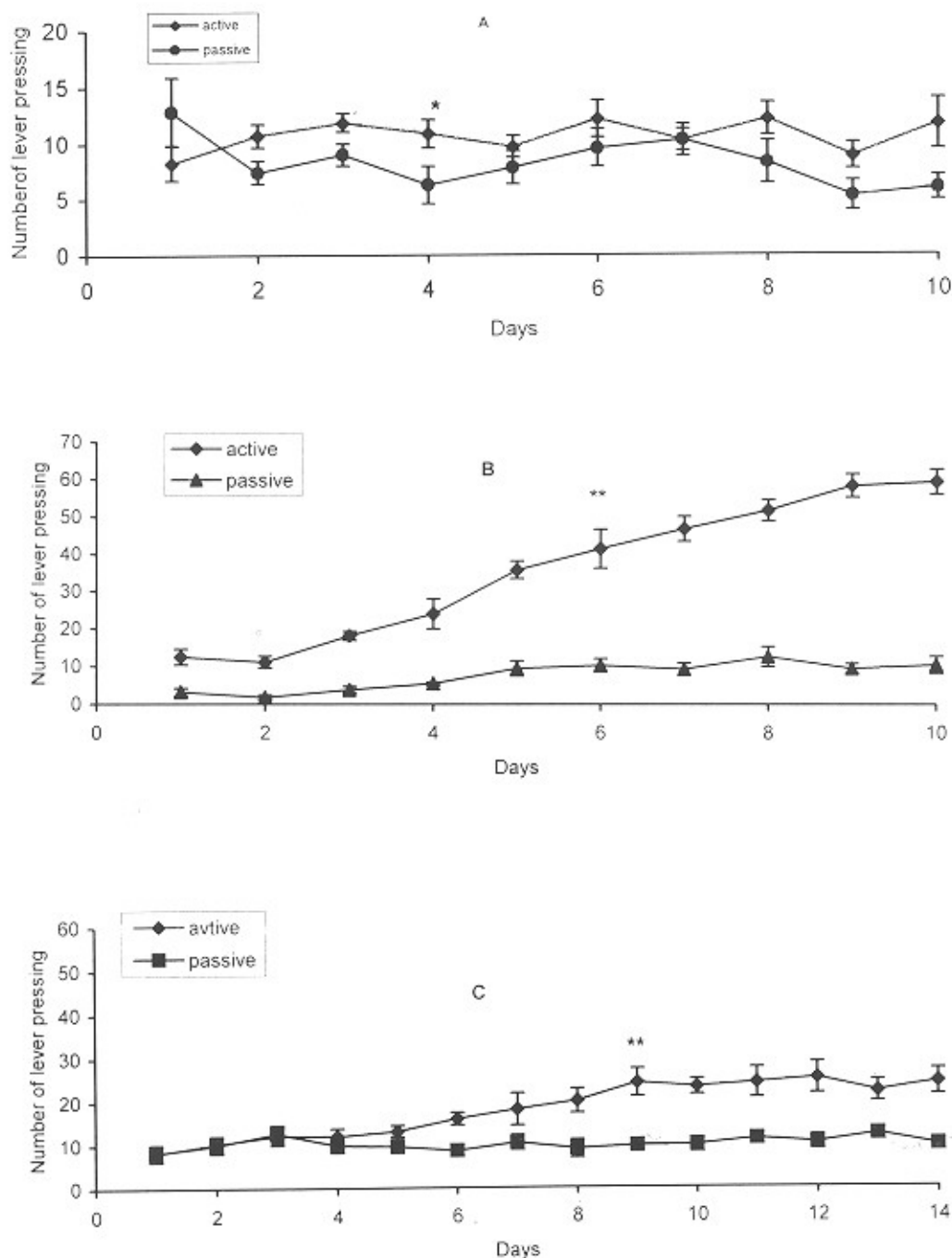
شکل ۲ مربوط به مقایسه تعداد پدال‌های فعال در سه

هیپارین ۵ u/ml و استرپتوکیناز ۲ u/ml به همراه نرمال‌سالین در داخل کانول پر شد [۲۲]. برای جلوگیری از عفونت، ۶ mg/kg جنتامایسین به همراه ۱۲۰ mg/kg سفازولین زیرجلدی تزریق شد. بعد از جراحی، رت‌ها دوره بهبودی ۴ روزه را طی کردند که در این مدت غذا و آب به صورت آزاد در اختیارشان بود. هر روز آنتی‌بیوتیک به مقدار ذکر شده فوق زیرجلدی تزریق شد.

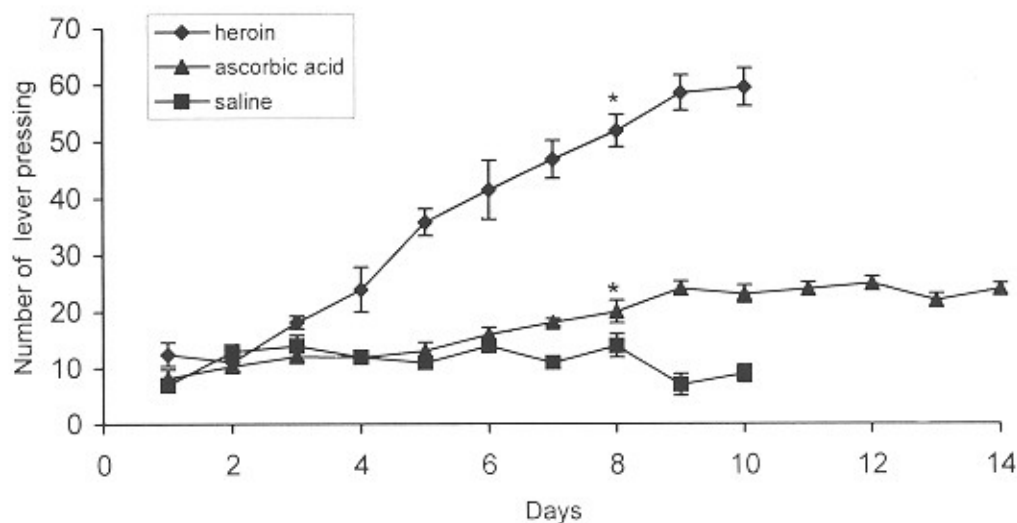
گروه‌های آزمایشی. رت‌ها به سه گروه زیر تقسیم شدند: گروه سالین ($n=7$)، گروه هرویین ($n=6$) و گروه اسیداسکوربیک ($n=6$). در گروه کنترل پس از دوره بهبودی، حیوان در قفس خودتزیقی قرار داده شد و در صورت فشار دادن پدال فعال ۰/۱ ml نرمال‌سالین از طریق کانول پشت سر دریافت کرد. علاوه بر آن لامپ قرمز روشن شد و یک عدد بسته غذایی به وسیله پمپ در اختیار حیوان قرار گرفت. این روند، ۱۰ روز ادامه یافت که ۵ روز اول آن با ۱۲ ساعت گرسنگی و ۵ روز دوم بدون گرسنگی انجام شد. تمام اطلاعات حاصل از این ۱۰ روز به طور دقیق ثبت گردید. در گروه هرویین مانند گروه اول عمل شد با این تفاوت که به جای نرمال‌سالین محلول هرویین هیدروکلراید ۱ mg/ml در اختیار حیوان قرار داده شد. ۵ روز اول با گرسنگی و ۵ روز دوم بدون گرسنگی آزمایش انجام شد. هر بار حیوان پدال فعال را فشار داد ۰/۱ ml از محلول هرویین هیدروکلراید از طریق پمپ متصل به کانول دریافت کرد (۰/۱ mg/Infusion) [۱۸،۱]. در پایان ۱۰ روز علایم سندرم محرومیت با تزریق ۲ mg/kg نالوکسان به صورت داخل صفاقی بررسی شد. در گروه اسیداسکوربیک، رت‌ها ۳۰ دقیقه قبل از قرار گرفتن در اتاقک خودتزیقی ۳۰۰ mg/kg اسیداسکوربیک به صورت داخل صفاقی دریافت کردند [۵]. سپس همانند گروه هرویین (گروه دوم) آزمایش ادامه یافت و حیوان با هر بار فشار دادن (در فاصله ۱۰ ثانیه) روی پدال فعال ۰/۱ mg هرویین هیدروکلراید دریافت کرد. در این گروه نیز ۵ روز اول با گرسنگی و بقیه روزها بدون گرسنگی آزمایش انجام شد. روز دهم با

یعنی روزهای آزمایش تقریباً ثابت است ولی در مورد گروه هرویین از روز چهارم به بعد و در گروه اسیداسکوربیک از روز ششم آزمایش، افزایش در تعداد

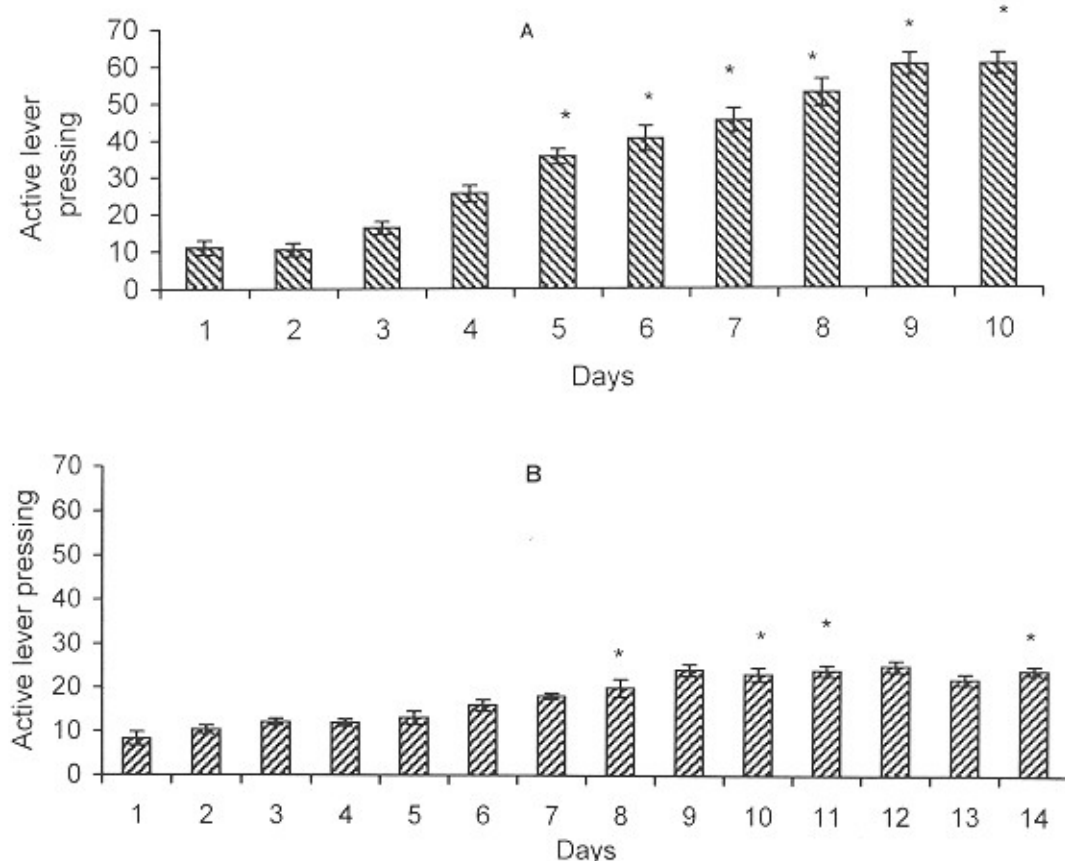
گروه مختلف برحسب روز بوده که تفاوت معنی داری را نشان می دهد. همان طوری که در شکل ۲ قابل مشاهده است تعداد پدال های فعال در گروه کنترل با گذشت زمان



شکل ۱. مقایسه تعداد پدال های فعال و غیرفعال زده شده در گروه های کنترل (A)، هرویین (B) و اسیداسکوربیک (C). بین تعداد پدال های فعال و غیرفعال زده شده در هر گروه اختلاف معنی داری وجود دارد. گروه اسیداسکوربیک ۳۰ دقیقه قبل از خود تزریقی، ۲۰۰ mg/kg اسیداسکوربیک به شکل داخل صفاقی دریافت نمود. با هر بار زدن پدال فعال در گروه کنترل، ۰/۱ میلی لیتر سالین و در دو گروه دیگر همین حجم محلول هرویین (۱ mg/ml) به حیوان تزریق شد ولی با زدن پدال غیر فعال هیچ پاداشی داده نشد. $**P < .001$, $*P < .001$



شکل ۲. مقایسه تعداد پدال‌های فعال زده شده در گروه‌های کنترل (A)، هرویین (B) و اسیداسکوربیک (C) اختلاف معنی‌داری را بین آنها نشان می‌دهد (* $P < .001$).



شکل ۳. مقایسه تعداد پدال‌های فعال زده شده در گروه‌های هرویین (A) و اسیداسکوربیک (B). در گروه هرویین بعد از روز ۴ افزایش قابل توجهی در تعداد پدال‌ها مشاهده می‌شود و در روز ۹ و ۱۰ به یک حالت ثابت می‌رسد. بین تعداد پدال‌های زده شده در روزهای مختلف اختلاف معنی‌دار وجود دارد. در گروه اسیداسکوربیک، تعداد پدال‌ها از روز ۷ شروع به افزایش نموده و درصد افزایش در روزهای بعد ملایم‌تر است. بین تعداد پدال‌های زده شده در روزهای مختلف اختلاف معنی‌دار وجود دارد (بین روزهای ۱-۵ با روزهای ۱۱، ۱۰، ۹، ۸ و ۱۴). گروه اسیداسکوربیک ۳۰ دقیقه قبل از خود تزریقی، ۳۰۰ mg/kg اسیداسکوربیک به شکل داخل صفاقی دریافت نمود. با هر بار زدن پدال فعال ۱ میلی‌لیتر محلول هرویین (۱ mg/ml) به حیوان تزریق شد. * $P < .001$.

در محیط کشت سلولی تخریب می‌کند [۲۲]. مهم‌ترین هدف مطالعه حاضر این بوده که آیا اسید اسکوربیک قادر است وابستگی به هرویین را از بین برده و یا به تأخیر بیاورد؟ بر این اساس پدیده ایجاد وابستگی به هرویین با استفاده از تکنیک خود تزریقی وریدی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از آنالیز داده‌های به دست آمده در گروه‌های مختلف (شکل ۴) نشان می‌دهد که تفاوت‌های معنی‌داری بین تعداد فشردن شدن پدال فعال گروه‌های مختلف وجود دارد که به نوعی بیانگر اثر اسید اسکوربیک در روند ایجاد اعتیاد می‌باشد. در تمام گروه‌ها اختلاف معنی‌داری بین پدال فعال و غیرفعال دیده شد (شکل ۱، ۲ و ۳) که بیانگر وجود انگیزه در فشردن پدال فعال می‌باشد. در مورد گروه کنترل، این انگیزه دریافت بسته‌های غذایی بوده که در واقع پاداش فشار دادن پدال فعال می‌باشد. در گروه هرویین و اسید اسکوربیک انگیزه لازم برای فشردن پدال فعال دریافت هرویین بوده که میانگین تعداد پدال‌ها، گویای این مسئله است که خاصیت تشویقی هرویین از غذا قوی‌تر است به طوری که تعداد پدال‌های فشردن شده در گروه هرویین از گروه کنترل بسیار بیشتر است. بررسی روز به روز تعداد فشردن پدال‌ها در گروه کنترل هیچ گونه افزایشی را در طی روزهای آزمایش نشان نمی‌دهد بلکه همان طوری که از شکل ۴ مشخص است تعداد پدال‌های فعال در این گروه در حدود ۱۰ پدال در تمام طول ۱۰ روز آزمایش ثابت مانده است که خود بیانگر عدم تغییر در رفتار آنها می‌باشد.

بررسی روز به روز تعداد فشردن پدال‌ها در گروه هرویین (شکل ۴ و ۵) نشان می‌دهد که تعداد پدال‌های فعال در ۳ روز اول آزمایش تقریباً برابر گروه کنترل بوده ولی از روز چهارم به بعد تعداد پدال‌ها افزایش یافته و هر روز نسبت به روز قبل زیادتر شده و در حدود روز هشتم به یک کفه یا حالت ثابت رسیده و در طی روزهای نهم و دهم 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

پدال‌های فعال مشاهده می‌شود که در مورد گروه هرویین شدیدتر است و از متوسط ۱۰ پدال در روز اول به متوسط ۶۰ پدال در روز نهم و دهم رسیده است. همچنین مشخص است که در مورد گروه اسید اسکوربیک در روزهای ۶ و ۷ و ۸ تعداد پدال‌ها افزایش یافته و سپس به یک حالت ثابت کفه مانند رسیده که متوسط حدود ۲۰ پدال در هر روز را نشان می‌دهد. در مورد گروه هرویین، افزایش تعداد پدال‌ها از روز چهارم تا روز هشتم شدیدتر بوده و سپس به یک کفه رسیده است و به نظر می‌رسد که در روز هشتم، وابستگی به هرویین کامل شده است.

تعداد پدال‌های فعال برحسب روز در تک‌تک گروه‌ها نشان می‌دهد که در گروه کنترل تعداد پدال‌های فعال در ۱۰ روز آزمایش تفاوت معنی‌داری نداشت ولی در گروه هرویین و گروه اسید اسکوربیک این تفاوت معنی‌دار بود ($P < 0.001$). به خصوص در گروه هرویین (شکل ۳-A) که پس از روز چهارم تفاوت‌ها چشمگیر بود. در گروه اسید اسکوربیک (شکل ۳-B) نیز در بین بیشتر روزها تفاوت معنی‌دار بود. در گروه اسید اسکوربیک اختلاف بین روزهای ۵ - ۱ با روزهای ۸، ۱۰، ۱۱ و ۱۴ معنی‌دار می‌باشد.

بحث

مواد زیادی در درمان اعتیاد به مواد مخدر مورد استفاده قرار گرفته که موفقیت آنها در حل این مشکل بشری چندان چشمگیر نبوده است. در سال‌های اخیر استفاده از ویتامین‌ها، به ویژه ویتامین C و E مورد توجه قرار گرفته که بیشتر آنها در حد مطالعات آزمایشگاهی و تعداد کمی نیز به صورت بالینی در انسان انجام گرفته است [۵].

مطالعات زیادی از دخالت اسید اسکوربیک با آزاد شدن اسید گلوتامیک و دوپامین خبر می‌دهند [۱۳، ۱۷، ۱۹، ۲۳]. از طرفی اسید گلوتامیک و دوپامین مهم‌ترین میانجی‌های عصبی در پدیده تقویت می‌باشند [۶، ۹]. مطالعات دیگری نشان می‌دهند که اسید اسکوربیک به صورت *In Vitro* گیرنده‌های اپیوئیدی را

آکومینس و پاراژینگانتوسلولا ریس عمل می‌کند [۱۳، ۱۷، ۱۹]. بنابراین با توجه به مطالب فوق می‌توان بیان کرد که اسید اسکوربیک با دخالت در سیستم‌های یاد شده ایجاد وابستگی به هرویین را مختل کرده و یا به تأخیر انداخته است. از آنجا که اسید اسکوربیک در دوز بالا می‌تواند با جلوگیری از متابولیسم شدن اپیوئیدهای داخل مغزی درد و میزان مصرف اپیوئیدها را در بیماران سرطانی کاهش دهد، احتمال دارد که همین اتفاق در رت‌ها نیز صورت گرفته باشد. همچنین مشخص شده که مصرف اسید اسکوربیک با دوز بالا در بیماران معتاد به هرویین باعث کاهش علائم سندرم محرومیت شده و تحمل دوره ترک را آسان‌تر کرده است [۵]. به نظر می‌رسد که اسید اسکوربیک در مطالعه حاضر نیز چنین نقشی بازی کرده است. بنابراین، نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج حاصل از پژوهش‌های دیگر همخوانی دارد.

به طور کلی، اسید اسکوربیک می‌تواند یک داروی مناسب برای جلوگیری از ایجاد وابستگی به مواد مخدر و درمان اعتیاد باشد. مطالعات بیشتری برای تأیید این فرضیه وجود دارد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی که امکانات این تحقیق را فراهم نمودند تشکر می‌شود.

منابع

- [1] Anderson, H.L. and Robbins, T.W., Heroin self-administration under a second-order schedule of reinforcement: Acquisition and maintenance of heroin-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 153 (2000) 120-133.
- [2] Bassaveo, V., Increase of extracellular dopamine in the medial prefrontal cortex

توجه به این که با فشردن پدال فعال، محلول هرویین به حیوان تزریق شده است پس رت‌ها برای رسیدن به هرویین مورد نیاز، به زدن پدال فعال مبادرت کرده‌اند. بنابراین، به نظر می‌رسد که روند وابستگی به هرویین از روز چهارم خود را نشان داده و روز هشتم تثبیت شده است.

بررسی تعداد فشرده شدن پدال فعال در گروه اسید اسکوربیک (شکل ۶) الگوی متفاوتی را نشان می‌دهد. در این گروه تعداد پدال‌ها تا روز ششم تقریباً برابر با گروه کنترل ادامه یافته و از روز هفتم به تدریج افزایش یافته و با شیب ملایم تا حدود روز چهاردهم ادامه داشته است. روشن است که اسید اسکوربیک، الگوی گرفتن مواد مخدر و همچنین روند ایجاد اعتیاد را کاملاً تغییر داده است، به طوری که تمایل به هرویین از روز هفتم شروع شده و در روزهای بعدی به آرامی افزایش یافته است و در نهایت نیز به وابستگی کامل نرسیده است. از آنجا که اسید اسکوربیک در محیط کشت سلولی قادر است گیرنده‌های اپیوئیدی را تخریب کند احتمالاً در vivo نیز این حالت وجود دارد [۲۲]. احتمالاً اسید اسکوربیک با تخریب یا مختل کردن گیرنده‌های اپیوئیدی نوع Mu و Delta باعث کاهش اثرات تشویقی هرویین شده است، زیرا این گیرنده‌ها باعث افزایش ترشح دوپامین در هسته آکومینس شده و نقش زیادی در سیستم تشویق و تقویت دارند [۱۵]. از طرفی دوپامین و اسید گلوتامیک مترشح در هسته آکومینس و هسته پاراژینگانتوسلولا ریس در ایجاد وابستگی به مواد مخدر و همچنین بروز سندرم محرومیت نقش اساسی دارند [۲۱، ۱۹، ۱۲، ۸، ۴]. همچنین مشخص شده که اسید اسکوربیک از انتهای نرون‌های گلوتامینرژیک مغز آزاد می‌شود و سیستم‌های گلوتامینرژیک و دوپامینرژیک، میزان آزاد شدن آن را تنظیم می‌کنند و همچنین این دو سیستم به نوبه خود به وسیله اسید اسکوربیک تنظیم می‌شوند [۱۳، ۱۷، ۱۹]. به نظر می‌رسد که اسید اسکوربیک در دوز بالا به صورت آنتاگونیست سیستم دوپامینرژیک و گلوتامینرژیک حداقل در محدوده هسته

- dopamine-related electrochemical signals during intravenous heroin self-administration in rats. *Synapse*, 14 (1993) 60-72.
- [11] Manning, B.H., Morphine analgesia in the formalin test evidence for forebrain and midbrain site of action. *Neuroscience*, 63 (1994) 289-294.
- [12] Marinelli, M., Dopamine dependent response to morphine. *Proc. Natl. Acad. Sci (USA)*, 95 (1988) 7742-7747.
- [13] Nestby, P., Ethanol like psychostimulants and morphine cause long-lasting hyperactivity of dopamine and acetylcholin neurons. *Psychopharmacology (Berl)*, 133 (1997) 69-76.
- [14] Ostrowski, N.L. and Pert, A., Substantia nigra opiate receptor on basal ganglia efferents. *Brain Res. Bull.*, 38 (1995) 513-523.
- [15] Piepponen, T.P., Effect of selective opioid receptor antagonists on morphine induced-changes in striatal and limbic dopamine metabolism. *Pharmacol. Toxicol.*, 77 (1995) 204-208.
- [16] Pierce, K.C., Ascorbic potentiate amphetamine induced conditioned place preference and forebrain dopamine release in rat. *Brain Res.*, 688 (1995) 21-29.
- [17] Rebec, G.A., Vitamin as neuromodulator: ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulate dopaminergic and glutaminergic transmission. *Prog. Neurobiol.*, 43 (1994) 537-565.
- [18] Robert. D.C.S., Drug self-administration methods, *Psychopharmacology (Berl)*, during naloxone precipitated opioid abstinence. *Psychopharmacology (Berl)*, 122 (1995) 202-205.
- [3] Carlson, K.R., Interaction of opiates with dopamine receptor. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 16 (1982) 119-124.
- [4] Devine, D.P. and Wise, R.A., Self administration of heroin, DAMGO and DPDPE into the VTA of rats. *J. Neurosci.*, 14 (1994) 1978-1840.
- [5] Evangelou, A., Ascorbic acid effect on withdrawal syndrom of heroin abusers. *In vivo*, 14 (2000) 363-366.
- [6] Fuller, S.A. and Stein, E.A., Dopamine release in the nucleus accumbens during heroin self-administration is modulated by kappa opioid receptors: an in vivo fast-cyclic voltametry study. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 284 (1998) 151-61.
- [7] Grant, S.G., Buprenorphine and morphine produce equivalent increase in extracellular single unit activity of dopamine neurons in the ventral tegmental area in vivo. *Synapse*, 16 (1994) 181-187.
- [8] Grrits, M.A. and Ramsy, N.F., Lack of evidence for an involvement of nucleus accumbens dopamine D receptor in the initiation of heroin self-administration in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*, 114 (1994) 488-494.
- [9] Herz, A., Opioid reward mechanisms a key role in drug abuse. *Cana. J. Pharmacol.*, 76 (1998) 252-258.
- [10] Kiyatkin, E.A., Wise, R.A. and Grtton, A., Drug and behavior-associated changes in

- 1179-1187.
- [22] Thomas, J.M., Training dose and session time as contextual determinants of heroin self-administration in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 60 (1998) 415-421.
- [23] Verma, A., Role of D1/D2 dopamine and NMDA receptor in morphine tolerance and dependence in mice. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 5 (1995) 81-85.
- [24] Wiesenfeld, H.Z., Combined opioid NMDA antagonist therapies what advantages do they offer for control of pain syndromes, *Drugs*, 55 (1998) 1-4.
- 114(1994) 488-494.
- [19] Sepulveda, M.G., The effect of precipitated withdrawal on extracellular glutamate and aspartate in the nucleus accumbens of chronically morphine treated rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 60 (1998) 255-262.
- [20] Suaudeau, C., Analgesic effect of direct D2 dopamine receptor agonist Ru-24926 and cross tolerance with morphine. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 122 (1998) 96-99.
- [21] Tenda, G., A dopamine-Mu opioid link in the rat ventral tegmentum shared by palatable food. *Eur. J. Neurosci.*, 10 (1998)

The effect of ascorbic acid on self-administration of heroin in rats

E. Dodangeh^{*1} (M.Sc), M.R. Jafari¹ (M.D), H. Alaei¹ (Ph.D), A. Nasimy¹ (Ph.D),
M.H. Esmaili² (M.Sc)

1- Dept. of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

2- Dept. of Physiology, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

Introduction: Several regions of brain are related to opiate addiction, specially, Ventral Tegmental Area (VTA) and Nucleus Accumbens with glutaminergic and dopaminergic systems have very major roles. There are several evidence that ascorbic acid can be a neurotransmitter and released from ending of glutaminergic neurons and regulate the release of glutamate and dopamin. The main object of this study was, if ascorbate be able to prevent addiction to heroin or delayed it?

Materials and Methods: Male wistar rats weighted 300 ± 30 g were anesthetized and through sterile surgery implanted with silastic catheters inserted into the right jugular vein. After 4 days of recovery animals were fitted and the external end of the catheter was connected with a syringe-driven pump, then were placed in the self-administration apparatus that had two lever (active, passive) for 2h every day. Active lever switched on the infusion pump for injecting 0.1 ml of saline or saline containing 1 mg/ml of heroin. (FR=1, Time out=10s). Ascorbate (300 mg/kg, i.p) were used 30 minutes before heroin self-administration.

Results: Injection of ascorbate prevent the development of dependence on heroin in rats. There was a significant difference ($P < 0.001$) between the numbers of active, but not passive lever among the groups.

Conclusion: Ascorbate can antagoniz the reinforcing effect of heroin and can used as effective pharmacotherapy for heroin abuse specially when used with high dose.

Keywords: Heroin; Addiction; Self-administration; Ascorbic acid

* Corresponding author. Fax: 0311-792243; Tel: 0311-792243; E.mail: Ehsaan48@hotmail.com