

## Ascorbic acid antagonizes nicotine-induced place preference and behavioral sensitization in female mice

Aliabadi AA<sup>1</sup>, Sahraei H<sup>2,6\*</sup>, Sadooghi M<sup>1</sup>, Ghoshooni H<sup>2</sup>, Alaf-Javadi M<sup>3</sup>, Salimi H<sup>4</sup>, Barzegari AA<sup>2</sup>, Hossein-Mardi L<sup>1</sup>, Yari M<sup>1</sup>, Faraji N<sup>1</sup>, Zardooz H<sup>5</sup> and Shams J<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Azad University, North Branch of Tehran.

<sup>2</sup>Department of Physiology and Biophysics, School of Medicine, and Behavioral Sciences Research Center (BSRC), Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences, Tehran. <sup>3</sup>School of Nursing, Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences, Tehran. <sup>4</sup>Department of Psychology, School of Medicine, Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences.

<sup>5</sup>Neuroscience Research Center (NRC), Shaheed Beheshti University of Medical Sciences. <sup>6</sup>Military Health Research Center, Baqiyatallah (a.s.) University of Medical Sciences, Tehran.

### Abstract

**Introduction:** The influence of ascorbic acid on the nicotine-induced conditioned place preference (CPP) and behavioral sensitization was investigated in the present study.

**Methods:** In a pilot study, place conditioning and locomotor activity were investigated after nicotine (0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5 and 2 mg/kg) or ascorbic acid (1, 10, 100 and 1000 mg/kg) administration. Different doses of ascorbic acid in conditioning days or on the test days were used. Behavioral sensitization was induced in animals by daily intraperitoneal administration of nicotine (0.25 mg/kg) for seven consecutive days followed by one day interval. On 9<sup>th</sup> day, locomotor activity was induced by ineffective dose of nicotine (0.1 mg/kg). Ascorbic acid was injected 20 min before each injection of nicotine (acquisition of sensitization) or acutely 20 min before a challenge nicotine injection (expression of sensitization).

**Results:** The results showed that intraperitoneal nicotine (1 mg/kg) administration can induce place preference whereas acute administration of the drug induces catalepsy. Administration of ascorbic acid did not induce place preference nor place aversion and also did not change the locomotor activity. Locomotor sensitization in mice was produced by intraperitoneal injection of nicotine (0.25 mg/kg) for 7 consecutive days. On the 9<sup>th</sup> day of experiments, activity of the mice was recorded after challenge with nicotine (0.1 mg/kg, i.p.). The sensitization was better achieved when the ineffective dose of nicotine (0.1 mg/kg) was applied. Administration with ascorbic acid reduced both the acquisition and expression of nicotine-induced CPP. It was shown that ascorbic acid attenuated the acquisition of nicotine sensitization in a dose-independent manner but the expression of nicotine-induced sensitization was not affected by ascorbic acid.

**Conclusion:** We conclude that ascorbic acid may interfere with nicotine-induced place preference and behavioral sensitization.

**Keywords:** Nicotine; Ascorbic acid; Place preference; Behavioral sensitization; Mice.

\* Corresponding Author Email: h.sahraei@bmsu.ac.ir

## مهار ترجیح مکان شرطی شده و حساسیت حرکتی ناشی از نیکوتین توسط اسید آسکوربیک در موش کوچک آزمایشگاهی

علی اکبر علی‌آبادی<sup>۱</sup>، هدایت صحرانی<sup>۲\*</sup>، مهرانگیز صدوقی<sup>۱</sup>، حسن قشونی<sup>۲</sup>، مهروز علاف‌جوادی<sup>۲</sup>، سید حسین سلیمی<sup>۲</sup>، امیر عباس برزگری<sup>۲</sup>، لیلا حسین‌مردی<sup>۱</sup>، مریم یاری<sup>۱</sup>، نسرين فرجی<sup>۱</sup>، حمیرا زردوز<sup>۳</sup> و جمال شمس<sup>۴</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شمال تهران، گروه زیست‌شناسی  
۲- دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم رفتاری و مرکز تحقیقات بهداشت نظامی  
۳- دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، دانشکده پرستاری  
۴- دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، دانشکده پزشکی، گروه روان‌شناسی  
۵- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب

دریافت: تیر ۱۳۸۴ بازبینی: بهمن ۱۳۸۴ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۵

### چکیده

**مقدمه:** در این تحقیق، تاثیر اسیدآسکوربیک بر القاء ترجیح مکان شرطی شده و حساسیت رفتاری ناشی از نیکوتین در موش کوچک آزمایشگاهی ماده بررسی شد. **مواد و روش‌ها:** در یک آزمایش ابتدائی، ترجیح مکان شرطی شده و فعالیت حرکتی با تزریق نیکوتین ( $0/25$  mg/kg،  $0/5$ ،  $0/75$ ،  $1$ ،  $1/5$  و  $2$ ) و یا اسیدآسکوربیک ( $1$ ،  $10$ ،  $100$  و  $1000$ ) در حیوانات بررسی شد. مقادیر مختلف اسیدآسکوربیک در روزهای شرطی شدن با نیکوتین (کسب) و یا در روز تست (بیان) به حیوانات تزریق شد. حساسیت حرکتی در موشها با تزریق داخل صفاقی نیکوتین ( $0/25$  mg/kg) به مدت ۷ روز پیاپی و سپس ۱ روز استراحت ایجاد شد. در روز ۹ تحقیق، حساسیت حرکتی با تجویز دوز کم‌اثر نیکوتین ( $0/1$  mg/kg) بررسی شد. اسیدآسکوربیک ۲۰ دقیقه قبل از تجویز نیکوتین در روزهای القاء حساسیت (کسب) و یا ۲۰ دقیقه قبل از تجویز دوز کم اثر نیکوتین در روز تست (بیان) به موشها تجویز شد.

**نتایج:** نتایج بدست آمده نشان می‌دهند که: تجویز نیکوتین قادر به القاء ترجیح مکان شرطی شده است اما تجویز حاد آن سبب القاء بی‌حرکتی شدید در حیوانات می‌شود. تزریق اسیدآسکوربیک نه قادر به القاء ترجیح مکان شرطی شده است و نه فعالیت حرکتی حیوانات را تغییر می‌دهد. تجویز نیکوتین (هفت روز و هر روز یکبار با دوز  $0/25$  میلی‌گرم/کیلوگرم) سبب القاء حساسیت حرکتی در حیوانات شد. این حساسیت با دوز  $0/1$  میلی‌گرم/کیلوگرم بهتر نشان داده شد. تجویز اسید آسکوربیک می‌تواند کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از نیکوتین را مهار کند. همچنین، آزمایشات نشان دادند که تجویز اسیدآسکوربیک قبل از تجویز نیکوتین ( $0/25$  mg/kg) قادر به مهار کسب حساسیت حرکتی ناشی از نیکوتین بود. تجویز اسیدآسکوربیک در این دوزها قادر به مهار بیان حساسیت حرکتی ناشی از نیکوتین در حیوانات نبود.

**نتیجه‌گیری:** از این آزمایش‌ها نتیجه می‌شود که اسیدآسکوربیک قادر به مهار اثر نیکوتین در القاء ترجیح مکان شرطی شده و حساسیت حرکتی است.

**واژه‌های کلیدی:** نیکوتین؛ اسیدآسکوربیک، شرطی شدن مکانی، حساسیت رفتاری؛ موش کوچک آزمایشگاهی.

### مقدمه

و وابستگی را از خود نشان می‌دهد. تحقیقات گسترده نشان می‌دهند که مسیرهای مؤثر در القاء وابستگی برای سایر داروهای مخدر، در مورد نیکوتین نیز مؤثرند. آزمایش‌ها پیشنهاد می‌کنند که مسیر دوپامینرژیک مزوکورتیکولیمیک به عنوان مهمترین مسیر عملکرد نیکوتین می‌باشد [۲]. گیرنده‌های نیکوتینی استیل‌کولین در نواحی مختلف این مسیر مانند تگمتموم شکمی (بصورت پس-سیناپسی) و هسته آکومبانس (بصورت پیش-سیناپسی) یافت می‌شوند و تحریک این گیرنده‌ها به افزایش رها شدن دوپامین در هسته آکومبانس، آمیگدال، هیپوکمپ و قشر جلوپیشانی

مصرف سیگار از مهمترین مشکلات بهداشتی درمانی در جهان محسوب می‌شود و سالانه بودجه هنگفتی صرف عوارض ناشی از مصرف سیگار می‌شود [۱]. وابستگی به نیکوتین مهمترین دلیل دود کردن سیگار بشمار می‌رود. این ماده خصوصیات یک داروی مخدر شامل: القاء تحمل

\* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبات:  
h.sahraei@bmsu.ac.ir

کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده و حساسیت حرکتی به نیکوتین در موش کوچک آزمایشگاهی ماده بررسی شده است.

## مواد و روشها

### حیوانات

در این تحقیق از موشهای کوچک آزمایشگاهی ماده نژاد-Swiss Webster (انستیتو پاستور ایران) با میانگین وزنی ۳۰-۲۵ گرم استفاده شد. حیوانات در قفسهای ۲۰ تایی با دوره شبانه روزی طبیعی و در دمای ۲۲-۲۴ درجه با آب و غذای کافی نگهداری می شدند. در هر سری آزمایش ۷ سر حیوان مورد استفاده قرار گرفت.

### روش القاء ترجیح مکان شرطی شده

برای انجام آزمایش ترجیح مکان شرطی شده از دستگاه چوبی مخصوصی استفاده شد که از دو قسمت مجزا تشکیل شده است [۱۸]. این دو قسمت دارای ابعاد مساوی ۱۵×۱۵×۱۵ سانتی متر (طول و عرض و ارتفاع) می باشند که توسط یک دریچه گیوتینی مرکزی می توانند با هم در ارتباط باشند. رنگ دیواره های یک قسمت سفید و رنگ دیواره طرف دیگر سیاه بود. کف قسمت سیاه با استفاده از سنباده زبر شده که از طرف مقابل متمایز بود. دوره آزمایش ترجیح مکان شرطی شده پنج روز بود که شامل مراحل زیر است:

### الف) مرحله پیش شرطی سازی

در اولین روز هر دوره که روز آشنائی نامیده می شود، پس از برداشتن دریچه گیوتینی، هر حیوان به مدت ۱۰ دقیقه در داخل دستگاه قرار می گرفت تا آزادانه در دستگاه گردش کرده و با محیط آن آشنا شود. زمان سپری شده در هر قسمت دستگاه در این روز ثبت می شد. نتایج نشان داد که در این دستگاه حیوانات تمایل ذاتی به قسمت سیاه را از خود نشان می دهند و بنابراین از روش طرفدار (Biased) برای ادامه کار استفاده شد. در این روش حیوانات در طرف سفید دارو و در طرف سیاه دستگاه سالیان دریافت می کنند.

### ب) مرحله شرطی سازی

برای اینکه حیوان را به مکان معینی شرطی کنیم، طی مدت سه روز بطور متناوب به آنها دارو تزریق می کردیم. به این ترتیب که در ساعت ۹ صبح روز دوم، پس از توزین حیوانات، نیکوتین را بصورت داخل صفاقی (i.p.) به هر حیوان تزریق و پس از بستن دریچه گیوتینی آنها را به مدت ۳۰ دقیقه در قسمت سفید دستگاه قرار می دادیم. شش ساعت بعد پس از توزین مجدد به حیوانات سالیان تزریق می کردیم و آنها را به مدت ۳۰ دقیقه در قسمت سیاه قرار می دادیم. در روز سوم زمان تزریق نیکوتین و سالیان بر عکس می شد (صبح سالیان و عصر نیکوتین). در روز چهارم زمان تزریقات مانند روز دوم بود.

منجر شده و احساس لذت، آرامش، حافظه و افزایش توجه را در فرد مصرف کننده القاء می کند [۳].

آزمایش ها نشان داده اند که تجویز مکرر دوزهای نسبتاً کم نیکوتین می تواند به افزایش پاسخگویی فرد به آن منجر شود. این حالت را حساسیت یا تحمل معکوس می نامند و یکی از علل بازگشت معتادان به اعتیاد را این پدیده ذکر کرده اند [۴ و ۵]. مناطق مختلف مغز از جمله تگمنتوم شکمی و هسته آکومبانس را از قسمت‌هایی می دانند که در حساسیت دارویی نقش مهمی را دارند [۶]. تحقیقات سلولی انجام شده نیز گیرنده های دوپامینی [۷]، گلوتاماتی [۸]، اوبیوئیدی [۹] و نیکوتینی [۱۰] را در این امر دخیل می دانند.

یکی از راه های مهم در بررسی اثر داروهای مخدر در القاء حساسیت، بررسی اثر داروهای مخدر در القاء حرکت در حیواناتی است که قبلاً این داروها را دریافت کرده بودند. لازم به توضیح است که داروهای مخدر بر حرکت حیوان نیز مؤثرند و می توانند باعث بروز حرکت بسیار زیاد در حیوانات شوند. این امر را حساسیت رفتاری نیز می نامند [۱۱].

اسیدآسکوربیک از موادی است که بصورت طبیعی در بدن به عنوان یک کو-فاکتور برای بسیاری از فعالیتهای آنزیمی ضروری می باشد. این ویتامین در مغز تجمع پیدا کرده و به عنوان یک عامل آنتی اکسیدان عمل کرده و بسیاری از مواد حاصل از متابولیسم را در فضاهای بین سلولی برداشت می کند [۱۲]. تحقیقات مختلف نشان داده اند که تجویز اسیدآسکوربیک باعث بهبود عملکرد نورونهای دوپامینی [۱۳] و گلوتاماتی [۱۲] می گردد. بخصوص در این زمینه تداخل عمل دوپامین و اسیدآسکوربیک نکته بسیار جالبی می تواند باشد. برای مثال: اسیدآسکوربیک در مغز بعنوان آنتاگونیست گیرنده های دوپامینی عمل می کند [۱۳]. این ماده از اتصال آگونیستها و آنتاگونیستهای نشاندار شده دوپامینی به گیرنده هایشان ممانعت می کند [۱۳]. اسیدآسکوربیک همچنین از رهاسدن دوپامین توسط مت-آمفتامین که یک آگونیست غیر مستقیم دوپامینی است جلوگیری کرده و تغییرات رفتاری ناشی از آن را نیز مهار می کند [۱۴]. این امر می تواند به معنای تغییر عملکرد سیستم دوپامینی تلقی شود. تحقیقات دیگری نیز وجود دارد که نشان می دهند که اسیدآسکوربیک از افزایش فعالیت حرکتی ناشی از الکل [۱۵] و د-آمفتامین [۱۶] جلوگیری می کند. این نوع عملکرد به تاثیر اسیدآسکوربیک بر فعالیت سیستم دوپامینی پاداش در مغز نسبت داده شده است. در همین راستا بایستی به این تحقیق نیز اشاره کرد که اسیدآسکوربیک باعث تقویت اثر آنتاگونیستهای دوپامینی می گردد [۱۷]. همچنین این ماده عملکرد گیرنده های دوپامینی را بهبود می بخشد [۱۴ و ۱۶].

با اینهمه، تا کنون تاثیر تجویز اسیدآسکوربیک بر عملکرد نیکوتین مورد توجه قرار نگرفته است و چگونگی تاثیر این ویتامین بر اثرات سرخوشی آور و نیز اثرات حرکتی نیکوتین بررسی نشده است. با توجه به نکات گفته شده در مورد اثر اسیدآسکوربیک بر عملکرد سیستم های دوپامینی و گلوتاماتی در مغز و نیز با توجه به نقش دوپامین و گلوتامات در بروز اثرات سرخوشی آور و حرکتی نیکوتین، در این تحقیق اثر اسیدآسکوربیک بر

**ج) مرحله پس از شرطی سازی**

در روز پنجم آزمایشات (آخرین روز هر دوره آزمایش)، ابتدا دریاچه گیوتینی برداشته می‌شد و سپس هر حیوان در داخل دستگاه قرار می‌گرفت و برای مدت ۱۰ دقیقه اجازه حرکت آزادانه در هر دو قسمت دستگاه را داشت. مدت زمان توقف هر حیوان در هر قسمت دستگاه ثبت شده و زمان توقف در قسمت دریافت دارو (Drug-Paired) از زمان توقف حیوان در قسمت دریافت سالیین (Saline-Paired) کم شده و به عنوان نمره شرطی شدن (Conditioning Score) به عنوان نمادی از اثر دارو در القاء شرطی شدن در نظر گرفته می‌شد. اسید آسکوربیک ۲۰ دقیقه قبل از تزریق نیکوتین در روزهای شرطی سازی (کسب) و یا ۲۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در روز تست (بیان) بصورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق می‌شد.

**روش القاء حساسیت حرکتی به نیکوتین**

برای القاء حساسیت به نیکوتین؛ به مدت هفت روز و هر روز یکبار نیکوتین (۰/۲۵ mg/kg) به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق می‌شد [۴]. سپس حیوانات به مدت ۱ روز داروئی دریافت نمی‌کردند. در روز نهم، حیوانات دوز کم اثر نیکوتین (۰/۱ mg/kg) به حیوانات تزریق شده و هر حیوان به مدت ۲۰ دقیقه در داخل دستگاه مخصوص شمارش حرکت قرار می‌گرفت و فعالیت حرکتی حیوان در این مدت اندازه‌گیری می‌شد.

**روش انجام آزمایش حساسیت حرکتی**

برای انجام آزمایش، از یک دستگاه فلزی استفاده شد که دارای سه ردیف دیود مادون قرمز در دو دیواره بود. ابعاد این دستگاه  $30 \times 30 \times 30$  سانتی متر (طول و عرض و ارتفاع) می‌باشد و دیودها در ارتفاع ۲ و ۲/۵ سانتی متری از کف دستگاه قرار داشت. این دیودها هرگونه حرکت حیوان را در داخل دستگاه ثبت می‌کردند. برای بررسی اثر هر دارو ابتدا حیوانات به محل آزمایش منتقل شده و پس از ۲۰ دقیقه که با محیط سازگار شدند، آزمایش شروع می‌شد. ابتدا به حیوانات دارو تزریق می‌شد و سپس ۵ دقیقه حیوان در داخل دستگاه قرار می‌گرفت تا با آن آشنا شود و پس از آن دستگاه روشن شده و به مدت ۲۰ دقیقه حرکت هر حیوان ثبت می‌شد.

**داروها**

دراین تحقیق، نیکوتین هیدروژن تارتارات و اسید آسکوربیک (سیگما-آمریکا) مورد استفاده قرار گرفتند. داروها در سالیین حل شده و با حجم ۱۰ ml/kg بصورت داخل صفاقی به حیوانات تجویز شدند. pH نیکوتین با استفاده از محلول هیدروکسید سدیم به ۷/۲ می‌رسید.

**گروه بندی دارویی**

بررسی اثر نیکوتین و اسید آسکوربیک در القاء ترجیح

**مکان شرطی شده**

گروه دریافت کننده نیکوتین به ۶ زیر گروه تقسیم شدند که به ترتیب دوزهای مختلف نیکوتین (۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲) را در روزهای آموزش دریافت کردند. در روز تست گروه‌ها بدون دریافت هیچ داروئی آزمایش شدند (دوزهای نیکوتین بر اساس کار قبلی [۱۸] انتخاب شد).

گروه دیگر از حیوانات در روزهای آموزش دوزهای مختلف اسید آسکوربیک (۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰) دریافت کرده و در روز تست بدون دریافت داروئی، تست شدند. گروه‌های کنترل در روزهای آموزش سالیین دریافت کردند. نتایج در شکل‌های ۱ و ۲ آمده است.

**بررسی اثر اسید آسکوربیک بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از نیکوتین**

چهار گروه از حیوانات در روزهای آموزش ابتدا مقادیر متفاوت اسید آسکوربیک (۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰) و ۲۰ دقیقه بعد، نیکوتین (۱ mg/kg) دریافت کرده و در روز تست، بدون دریافت داروئی آزمایش شدند (کسب).

چهار گروه دیگر از حیوانات در روزهای آموزش نیکوتین (۱ mg/kg) دریافت کردند. این گروه‌ها در روز تست ابتدا اسید آسکوربیک (۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰) دریافت کردند و ۲۰ دقیقه بعد آزمایش شدند (بیان). نتایج در شکل ۳ آمده است.

**بررسی اثر نیکوتین و اسید آسکوربیک در القاء حرکت**

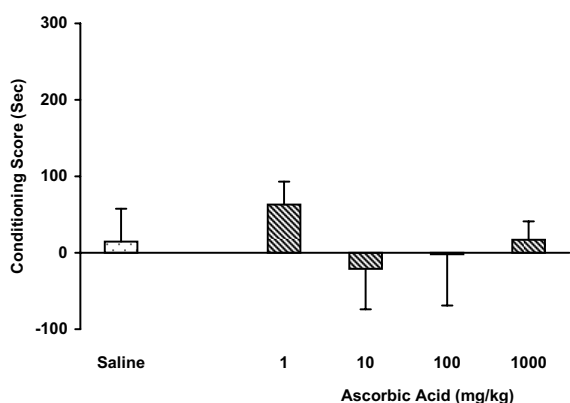
دراین مرحله از آزمایشات دوزهای مختلف نیکوتین (۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۱/۵) و یا اسید آسکوربیک (۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰) به ۱۰ گروه از حیوانات تزریق شد و پس از ۵ دقیقه زمان برای عادت کردن به محیط، اثر این داروها بر حرکت حیوانات در ۲۰ دقیقه بررسی شد. گروه‌های کنترل سالیین دریافت کردند (شکل ۴ و ۵).

**بررسی دوز-پاسخ نیکوتین در حیوانات حساس شده به نیکوتین**

به چهار گروه از حیوانات، در ۷ روز پیاپی برای القاء حساسیت نیکوتین (۰/۲۵ mg/kg) تزریق شد. پس از یک روز استراحت، حیوانات در روز نهم به منظور بررسی القاء حساسیت به نیکوتین تست شدند. سه گروه از حیوانات سه دوز بی اثر نیکوتین (۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲۵) را دریافت کرده و به مدت ۲۰ دقیقه برای بررسی حساسیت تست شدند. گروه چهارم به عنوان گروه کنترل در روز تست سالیین دریافت کردند (شکل ۶).

**بررسی اثر اسید آسکوربیک بر کسب و بیان حساسیت حرکتی به نیکوتین**

در قسمت بیان، چهار گروه از حیوانات ابتدا ۷ روز و هر روز یکبار نیکوتین (۰/۲۵ mg/kg) دریافت کردند. سپس ۱ روز استراحت به حیوانات



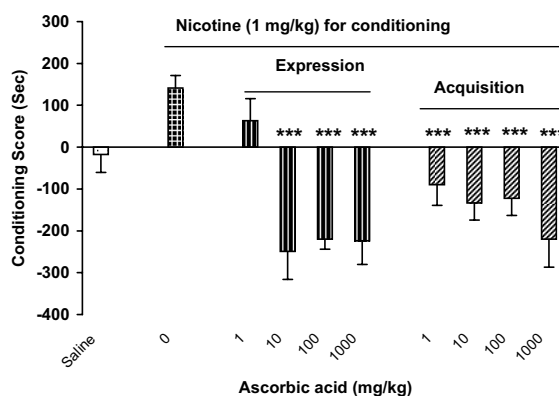
شکل ۲- اثر تزریق اسیدآسکوربیک در القاء ترجیح مکان شرطی شده. تزریق اسیدآسکوربیک قادر به القاء ترجیح یا تنفر مکانی در حیوانات نبود. نتایج به صورت (SEM±Mean) نمره شرطی شدن در مورد ۸ سر حیوان است.

شدند. نتایج نشان می دهد که تجویز نیکوتین در این حیوانات سبب افزایش قابل توجه تمایل آنها به قسمت دریافت دارو شده است [F(6,56)=4.61, P<0.0003] (شکل ۱).

در دسته دوم، حیوانات دوزهای مختلف اسیدآسکوربیک را در روزهای آموزش دریافت کرده و در روز تست بدون دریافت دارویی تست شدند. نتایج نشان داد که این دارو تاثیری در القاء ترجیح یا تنفر مکانی ندارد [F(4,37)=1.232, P>0.05] (شکل ۲). گروه‌های کنترل در این آزمایش در روزهای آموزش فقط سالیین دریافت کردند.

### اثر اسیدآسکوربیک بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از نیکوتین

در این سری از آزمایشات از دو دسته حیوان (هر دسته شامل چهار گروه) استفاده شد. در دسته اول هر چهار گروه از حیوانات در سه روز شرطی سازی ابتدا دوزهای مختلف اسیدآسکوربیک و ۲۰ دقیقه بعد نیکوتین (۱ mg/kg) دریافت می کردند. در روز تست این حیوانات بدون دریافت هیچ دارویی تست می شدند. نتایج نشان داد که تجویز



شکل ۳- اثر تجویز اسیدآسکوربیک بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده به نیکوتین. نتایج به صورت (SEM±Mean) نمره شرطی شدن در مورد ۸ سر حیوان است. \*\*\* P<0.001, \*\* P<0.01

داده شد. در روز نهم، ابتدا به حیوانات دوزهای مختلف اسیدآسکوربیک (۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰) تجویز شد. ۲۰ دقیقه بعد، نیکوتین (۰/۱ mg/kg) به همه گروه‌ها تزریق شد و ۵ دقیقه حیوانات در داخل دستگاه قرار گرفتند تا با محیط سازگار شوند. سپس فعالیت حرکتی هر حیوان در مدت زمان ۲۰ دقیقه بررسی شد. گروه‌های کنترل سالیین دریافت کردند (شکل ۷).

در قسمت کسب، حیوانات ۷ روز و هر روز یکبار نیکوتین (۰/۲۵ mg/kg) دریافت می کردند. قبل از تجویز نیکوتین، ابتدا به حیوانات دوزهای مختلف اسیدآسکوربیک (۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰) تجویز شد. سپس ۱ روز استراحت به حیوانات داده شد. در روز نهم، ابتدا به همه گروه‌ها نیکوتین (۰/۱ mg/kg)، تزریق شد و پس از ۵ دقیقه زمان برای عادت کردن، فعالیت حرکتی هر حیوان در مدت زمان ۲۰ دقیقه بررسی شد. گروه‌های کنترل سالیین دریافت کردند (شکل ۸).

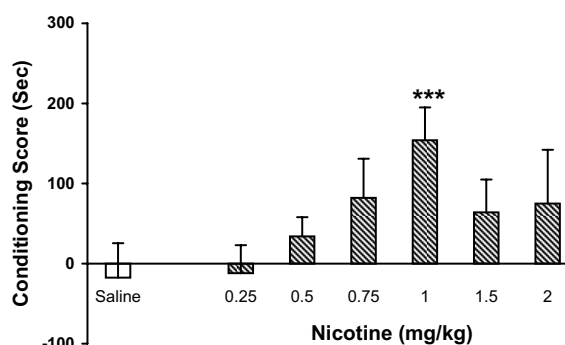
### تجزیه و تحلیل داده ها

اطلاعات بدست آمده بصورت میانگین ± انحراف معیار استاندارد (Mean±SEM) نمره شرطی شدن (در قسمت ترجیح مکان شرطی شده) و یا فعالیت حرکتی حیوانات (در قسمت حساسیت رفتاری) بیان شدند. به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون واریانس یک و بدنبال آن تست توکی استفاده شد. P< ۰/۰۵ مرز معنی دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد.

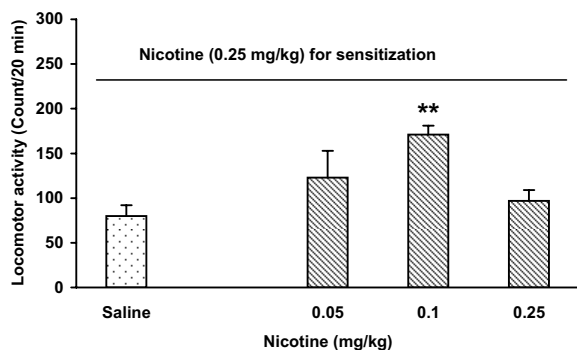
### نتایج

#### القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط نیکوتین و اسیدآسکوربیک

در این آزمایش، موشها به دو دسته تقسیم شدند. دسته اول به روش ذکر شده در قسمت روشها در روزهای شرطی سازی، نیکوتین دریافت کرده و در روز تست بدون دریافت هر گونه دارویی آزمایش

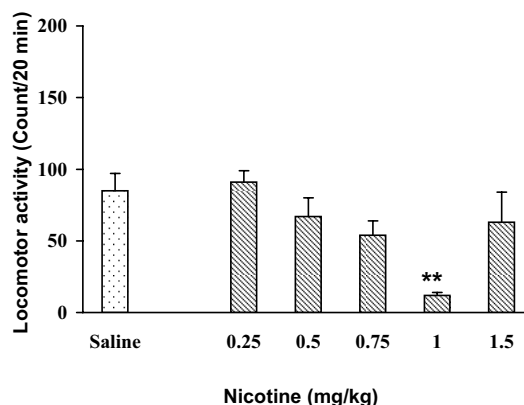


شکل ۴- اثر تزریق نیکوتین در القاء ترجیح مکان شرطی شده در موشهای کوچک آزمایشگاهی ماده. تزریق نیکوتین باعث القاء ترجیح مکان شرطی شده می شود. این نتیجه در مورد دوز ۱ mg/kg نیکوتین معنی دار بود. نتایج به صورت (SEM±Mean) نمره شرطی شدن در مورد ۸ سر حیوان است. \*\* P<0.01



**شکل ۶-** القاء حساسیت حرکتی به نیکوتین در موشهای آزمایشگاهی کوچک. نتایج نشان داد که دوز ۰/۱ میلی گرم نیکوتین بهتر از بقیه دوزها قادر به القاء پاسخ در حیوانات است. نتایج به صورت (SEM±Mean) میزان فعالیت حرکتی در مورد ۷ سر حیوان است. \*\*P<0.01

شکل ۴- اثر تزریق نیکوتین در القاء فعالیت حرکتی در موشهای کوچک آزمایشگاهی ماده. تزریق نیکوتین باعث القاء بی حرکتی شدید در حیوانات شد. این نتیجه در مورد دوز ۱ mg/kg نیکوتین قوی تر بود. نتایج به صورت (SEM±Mean) میزان فعالیت حرکتی در مورد ۷ سر حیوان است. \*\* P<0.01



**شکل ۴-** اثر تزریق نیکوتین در القاء فعالیت حرکتی در موشهای کوچک آزمایشگاهی ماده. تزریق نیکوتین باعث القاء بی حرکتی شدید در حیوانات شد. این نتیجه در مورد دوز ۱ mg/kg نیکوتین قوی تر بود. نتایج به صورت (SEM±Mean) میزان فعالیت حرکتی در مورد ۷ سر حیوان است. \*\* P<0.01

اسیدآسکوربیک می تواند کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از نیکوتین را کاملا مهار کند [F(4,26)=21.669, P<0.0001]. گروه دوم در روزهای آزمایش نیکوتین (۱ mg/kg) و در روز تست ۲۰ دقیقه قبل از شروع آزمون، دوزهای مختلف اسید آسکوربیک را دریافت می کردند. نتایج حاکی از آن است که تجویز اسید آسکوربیک باعث مهار بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از نیکوتین می شود [F(4,28)=6.49, P<0.0001] (شکل ۳).

### دوز-پاسخ نیکوتین در حیوانات حساس شده به نیکوتین

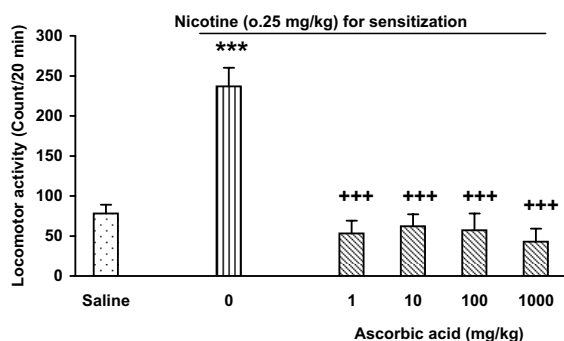
هنگامی که به چهار گروه از حیوانات، در ۷ روز پیاپی برای القاء حساسیت نیکوتین (۰/۲۵ mg/kg) تزریق شد، سه گروه از حیوانات که دوزهای بی اثر نیکوتین (۰/۰۵ mg/kg، ۰/۱ و ۰/۲۵) را دریافت کرده بودند، فعالیت حرکتی زیادی را از خود نشان دادند که دوز ۰/۱ میلی گرم نیکوتین بیشترین پاسخ را القاء کرد [F(3,24)=3.25, P<0.05] (شکل ۶).

### اثر تجویز نیکوتین و اسیدآسکوربیک در القاء حرکت در موشهای سوری

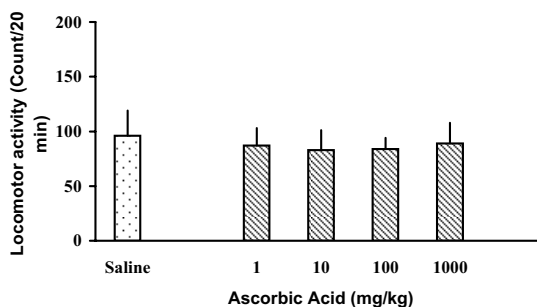
در این سری از آزمایشها، به منظور تعیین اثربخشی مقادیر متفاوت نیکوتین، به گروههای مختلفی از حیوانات دوزهای متفاوت این دارو تزریق شد. ۵ دقیقه بعد، حیوانات در داخل دستگاه حرکت سنج قرار گرفته و فعالیت حرکتی آنها در طی یک دوره ۲۰ دقیقه ای ثبت شد. نتایج نشان می دهند که این دارو در دوزهای ۰/۷۵ mg/kg و ۱ و ۱/۵ فعالیت حرکتی حیوانات را بشدت کاهش می دهد اما فقط دوز ۱ میلی گرم این دارو از نظر آماری تفاوت معنی دار با بقیه گروهها دارد. دوزهای ۰/۲۵ mg/kg، ۰/۵ اثری بر فعالیت حرکتی حیوانات ندارند

### اثر اسیدآسکوربیک بر کسب و بیان حساسیت حرکتی به نیکوتین

دسته اول از حیوانات در روزهای حساس سازی نیکوتین



**شکل ۷-** اثر تجویز اسیدآسکوربیک بر کسب حساسیت حرکتی به نیکوتین. نتایج به صورت (SEM±Mean) فعالیت حرکتی در مورد ۷ سر حیوان است. \*\*P<0.01 اختلاف از گروه کنترل دریافت کننده سالین و P<0.001 اختلاف از گروه کنترل دریافت کننده نیکوتین است.



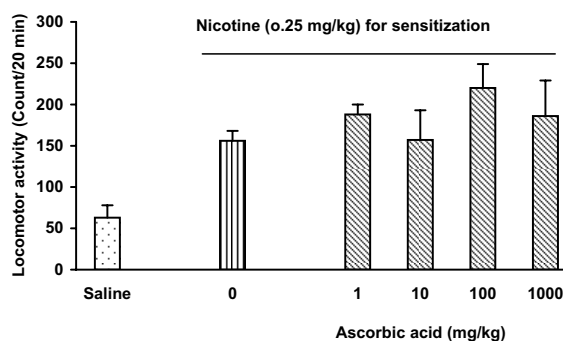
**شکل ۵-** اثر تزریق اسیدآسکوربیک در القاء فعالیت حرکتی. تزریق اسیدآسکوربیک قادر به القاء حرکت یا بی حرکتی در حیوانات نبود. نتایج به صورت (SEM±Mean) فعالیت حرکتی در مورد ۷ سر حیوان است.

دخاله دارند. از سوی دیگر، اثر نیکوتین وابسته به دوز نبود و فقط در یک دوز مورد استفاده ترجیح مکان شرطی شده و حساسیت حرکتی دیده شد. این نتیجه نیز با نتایج قبلی همخوانی دارد. زیرا در تحقیقات قبلی مشخص شده است که توانایی نیکوتین در القاء ترجیح مکان شرطی شده [۴، ۱۸ و ۲۰] و حساسیت حرکتی [۳، ۵ و ۲۲] وابسته به دوز نیست و حتی در برخی تحقیقات تجویز نیکوتین باعث بروز تنفر مکانی شده است که با نتایج تحقیق ما در تضاد است.

تجویز نیکوتین به حیوانات همچنین باعث کاهش فعالیت حرکتی در آنها می‌شود. از سوی دیگر، تنها یک دوز نیکوتین قادر به این کار بود. این اثر قبلاً بارها گزارش شده است و برخلاف دیگر داروهای اعتیادآور (مانند مورفین، کوکائین و آمفتامین)، که تجویز آنها باعث افزایش فعالیت حرکتی حیوانات می‌گردد، نشان داده شده است که تجویز نیکوتین نوعی کاتالپسی (بی حرکتی) را در حیوانات القاء می‌کند که وابسته به دوز نیز نمی‌باشد (برای مرور مراجعه شود به: ۱۱). برای توجیه این پدیده معتقدند که برخلاف دیگر داروهای مخدر که اثر خود را در افزایش رها شدن دوپامین در یک مرحله انجام می‌دهند، نیکوتین اثر خود را در دو مرحله تحریکی و یک مرحله مهاری نسبتاً طولانی اعمال می‌کند [۱۱]. به همین دلیل اگرچه یک جریان گذرای افزایش دوپامین پس از مصرف نیکوتین وجود دارد، اما به دنبال آن یک مرحله مهار نیز وجود دارد که ممکن است سرخوشی اولیه و نیز مهار حرکت را بصورت توامان در مورد نیکوتین مشاهده کنیم [۱۱].

تجویز اسیدآسکوربیک نه قادر به القاء ترجیح (و یا تنفر) مکانی شرطی شده بود و نه فعالیت حرکتی حیوانات را تغییر داد. با توجه به اثر اسید اسکوربیک بر فعالیت سیستم دوپامینی [۱۳، ۱۴ و ۱۶]، شاید اینگونه به نظر آید که تجویز اسید اسکوربیک ممکن است باعث بروز تنفر مکانی شرطی شده در حیوانات گردد و یا اینکه کاهش فعالیت حرکتی را در حیوانات به دنبال داشته باشد. اما در تحقیق حاضر هیچکدام از این دو مورد در حیوانات دیده نشد. استفاده از سایر روشهای بررسی اثر داروهای مخدر مانند خود-تجویزی شاید بتواند در این خصوص نتایجی را به همراه داشته باشد.

در قسمت دوم آزمایشات، تجویز اسیداسکوربیک توانست هم کسب و هم بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از نیکوتین را مهار سازد. این گفته بدین معنی است که احتمالاً اسیداسکوربیک باعث مهار یا کاهش فعالیت سیستمهای شده است که نیکوتین اثرات خود را از طریق آنها اعمال می‌کند. نیکوتین با اثر بر گیرنده های کولینرژیک خود که بر روی نورنهای اویپوئیدی در منطقه تگمنتوم شکمی و هسته آکومبانس قرار دارند و تحریک آنها باعث افزایش رها شدن دوپامین و بروز اثرات پاداشی می‌شود که در اینجا با افزایش زمان سپری شده در قسمت دریافت دارو همراه بود [۷ و ۱۱]. از سوی دیگر، نیکوتین با تحریک یک مسیر گلوتاماتی موجود در تگمنتوم شکمی باعث افزایش رها شدن دوپامین در این ناحیه می‌شود [۸]. تجویز اسیداسکوربیک باعث کاهش فعالیت سیستمهای دوپامینی و گلوتاماتی موجود در سیستم عصبی مرکزی شده



شکل ۸- اثر تجویز اسیداسکوربیک بر بیان حساسیت حرکتی به نیکوتین. نتایج به صورت (Mean±SEM) فعالیت حرکتی در مورد ۷ سر حیوان است.

(۰/۲۵ mg/kg) دریافت می‌کردند. در روز تست (روز نهم) ابتدا دوزهای مختلف اسید آسکوربیک به حیوانات تزریق شده و ۲۰ دقیقه بعد، نیکوتین (۰/۱ mg/kg) تزریق می‌شد. پس از ۵ دقیقه، فعالیت حرکتی حیوانات به مدت ۲۰ دقیقه ثبت می‌شد. آزمایشات نشان می‌دهند که تجویز اسید آسکوربیک باعث کاهش بیان حساسیت حرکتی ناشی از نیکوتین می‌شود [F(5,36)=5.7, P<0.0001] (شکل ۷). دسته دوم از حیوانات ابتدا دوزهای مختلف اسید آسکوربیک را دریافت کرده و ۲۰ دقیقه بعد، نیکوتین (۰/۲۵ mg/kg) دریافت می‌کردند. پس از هفت روز تکرار این کار، یک روز به حیوانات استراحت داده می‌شد و در روز نهم، فعالیت حرکتی حیوانات پس از تزریق نیکوتین (۰/۱ mg/kg) به مدت ۲۰ دقیقه ثبت می‌شد. آزمایشات نشان می‌دهند که تجویز اسید آسکوربیک باعث کاهش کسب حساسیت حرکتی ناشی از نیکوتین نمی‌شود [F(5,36)=1.04, P>0.05] (شکل ۸).

## بحث

این تحقیق به منظور بررسی اثر اسیداسکوربیک بر ترجیح مکان شرطی شده و حساسیت ناشی از نیکوتین در موش کوچک آزمایشگاهی ماده طراحی شد. آزمایش‌های ما نشان دادند که تجویز نیکوتین می‌تواند به القاء ترجیح مکان شرطی شده، حساسیت حرکتی و مهار حرکات حیوانات در موش‌های کوچک آزمایشگاهی ماده منجر شود. این نتایج با مطالعات قبلی در مورد موشهای کوچک آزمایشگاهی نر و ماده همخوانی دارد [۴ و ۱۸]. چنین فرض شده است که نیکوتین با اثر بر گیرنده‌های خود در ناحیه تگمنتوم شکمی و هسته آکومبانس باعث افزایش رها شدن دوپامین در ناحیه مزولیمبیک شده و در نتیجه پاداش (در ناحیه پوسته هسته آکومبانس) و حساسیت حرکتی (در ناحیه مغز هسته آکومبانس) القاء می‌شود [۶، ۷، ۱۱ و ۱۹]. بعلاوه، امروزه اطلاعاتی در دست است که نشان می‌دهند که دیگر نوروترانسمیترها مانند گلوتامات [۹]، نیتریک اکساید [۲۰ و ۲۱] و سیستم اویپوئیدی [۹] در عملکرد تحریکی نیکوتین هم در القاء ترجیح مکان شرطی شده و هم در القاء حساسیت حرکتی

دهند که مسیرها و سیستمهای نورونی و نوروترانسمیتری که در هنگام القاء و بیان حساسیت رفتاری فعال می شوند یکی نیستند، امری که در مورد ترجیح مکان شرطی شده بکرات نشان داده شده است.

در یک نتیجه گیری می توان بیان کرد که در این تحقیق اسیدآسکوربیک هم با اثرات تقویت مثبت (سرخوشی آور) و هم با اثرات رفتاری نیکوتین تداخل نشان داده و آنها را کاهش داد. مکانیسمهای متعددی هم برای این عملکرد اسیدآسکوربیک ممکن است وجود داشته باشد که از همه مهمتر بایستی به نقش اسیدآسکوربیک در مهار سیستم دوپامینی و گلوتاماتی در هسته آکومبانس، تگمتموم شکمی و یا نواحی دیگر اشاره کرد. با اینحال هنوز معلوم نیست که چرا اسیدآسکوربیک تنها بر کسب و نه بیان حساسیت حرکتی ناشی از نیکوتین مؤثر است و همچنین نمی توان به راحتی اظهار کرد که آیا در صورت مصرف مقادیر زیادی اسیدآسکوربیک، آیا می توان نیکوتین بیشتری را به مصرف رساند یا خیر. در هر حال تحقیقات بیشتر می تواند پاسخگوی ابهامات موجود در این زمینه باشد.

### تقدیر و تشکر

این کار قسمتی از طرح تحقیقاتی مرکز تحقیقات علوم رفتاری؛ پژوهشکده طب رزمی؛ دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) می باشد که بدینوسیله از حمایت مالی مرکز مذکور تشکر بعمل می آید.

### منابع

- [1] Baker TB, Brandon TH, Chassin L, Motivational influences on cigarette smoking. *Annu Rev Psychol* 55 (2004) 463-491.
- [2] Cadoni C, Di Chiara G, Differential changes in accumbens shell and core dopamine in behavioral sensitization to nicotine. *Eur J Pharmacol* 387 (2000) 23-R25.
- [3] Booze RM, Welch MA, Wood ML, Billings KA, Apple SR, Mactutus CF, Behavioral sensitization following repeated intravenous nicotine administration: gender differences and gonadal hormones. *Pharmacol Biochem Behav* 64 (1999) 827-839.
- [4] Biala G, Calcium channel antagonists suppress nicotine-induced place preference and locomotor sensitization in rodents. *Polish J Pharmcol* 55 (2003) 327-335.
- [5] Shim I, Javaid JI, Wirtshafter D, Jang SY, Shin KH, Lee HJ, Chung YC, Chun BG, Nicotine-

و احتمالا بدین ترتیب با اثرات نیکوتین مخالفت می کند [۱۲، ۱۴ و ۱۷]. برخی محققین همچنین نشان داده اند که تجویز اسیدآسکوربیک می تواند به تقویت اثر آفتماین در القاء ترجیح مکان شرطی شده در موشهای بزرگ آزمایشگاهی منجر شود [۱۴]. این نتیجه در مغایرت با نتایج تحقیق حاضر به نظر می رسد، اما شاید بتوان آن را به تفاوت های گونه ای و یا تفاوت در عملکرد دو داروی نیکوتین و آفتماین نسبت داد. بعلاوه، اثر اسیدآسکوربیک را بر متابولیسم نیکوتین بخصوص در حالت تجویز مزمن آن نایستی از نظر دور داشت.

در ادامه آزمایشات، تجویز مکرر و منقطع نیکوتین باعث القاء حساسیت حرکتی در حیوانات شد به نحوی که تجویز مقادیر اندک این دارو باعث افزایش شدید حرکت در موشهای حساس شده گردید، امری که در موشهای غیر حساس دیده نشد. این نتایج با نتایج سایر محققان همخوانی دارد [۴] اما با نتایج برخی دیگر در یک راستا نیست (برای مرور به: ۱۱ مراجعه کنید). حساسیت به نیکوتین احتمالا در منطقه مرکزی هسته آکومبانس و توسط سیستم دوپامینی القاء می شود [۷]. همچنین ناحیه تگمتموم شکمی نیز از نواحی مهم برای القاء حساسیت به نیکوتین و سایر داروهای مخدر می باشد [۱۹]. در این ناحیه و همچنین هسته آکومبانس نورونهای دوپامینی و گلوتاماتی نقش مهم و حیاتی را در القاء و بروز حساسیت به نیکوتین بازی می کنند [۸، ۱۱ و ۱۹]. چون انواع مختلفی از گیرنده های نیکوتینی در مغز یافت شده است، برخی از محققین معتقدند که بیش از یک نوع گیرنده نیکوتینی استیل کولین در حساسیت به نیکوتین دخالت دارند [۱۱]. بعلاوه، برخی محققین نوع الفا-۷ گیرنده های نیکوتین را به عنوان اصلی ترین گیرنده نیکوتین درگیر در بروز خواص پاداشی و افزایش فعالیت حرکتی نیکوتین معرفی کرده اند [۱۰].

تجویز اسیدآسکوربیک در خلال القاء حساسیت به نیکوتین، باعث کاهش شدید اثر نیکوتین در القاء حساسیت رفتاری شد. این نتیجه در هنگام استفاده حاد از اسید اسکوربیک در روز تست و بر بیان حساسیت رفتاری ناشی از نیکوتین مشاهده نشد. اطلاعات زیادی در راستای کار ما و در تایید آن وجود دارد. به عنوان مثال: تجویز اسیدآسکوربیک از القاء حساسیت حرکتی به اتانول در موشهای بزرگ آزمایشگاهی [۱۵] و همچنین القاء حساسیت رفتاری توسط آفتماین در موشهای کوچک آزمایشگاهی [۱۶] جلوگیری می کند. حساسیت به نیکوتین بر سیستمهای نوروترانسمیتری متعددی در مغز استوار است و بخوبی شناخته نشده است. تغییر در فعالیت سیستمهای دوپامینی [۷]، گلوتاماتی [۸] و نیتریک اکساید [۲۲] در هنگام تجویز نیکوتین دیده شده است. چون اسیدآسکوربیک با سیستم دوپامینی [۱۴] و گلوتاماتی [۱۲] مغز تداخل می کند و همچنین بعنوان یک آنتی اکسیدان در پاکسازی محیط از انواع متابولیت های حاصل از کار نیکوتین عمل می کند (که احتمالا با نیتریک اکساید تداخلی هم دارد)، می توان اینگونه فرض کرد که این دارو با اثر بر روی یک یا چند تا از این سیستمها اثر خود را بر کار نیکوتین اعمال کرده است. نتایجی که در قسمت آخر آزمایشات بدست آمد نشان داد که اسیدآسکوربیک اثری بر بیان حساسیت رفتاری ناشی از نیکوتین ندارد. این نتایج احتمالا نشان می



- antagonizes ethanol-induced locomotor activity in the open-field. *Pharmacol Biochem Behav* 62 (1999) 361-266.
- [16] Heikkila RE, Cabbat FS, Manzano L, Differential inhibitory effects of ascorbic acid on the binding of dopamine agonist and antagonist to neostriatal membrane preparations: correlations with behavioral effects. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 34 (1981) 409-421.
- [17] de Angelis L, Ascorbic acid and atypical antipsychotic drugs: modulation of amineptine-induced behavior in mice. *Brain Res* 670 (1995) 303-307.
- [18] Zarrindast MR, Faraji N, Rostami P, Sahraei H, Ghoshouni H, Cross-tolerance between morphine- and nicotine-induced conditioned place preference in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 74 (2003) 363-369.
- [19] Balfour DJK, Benwell MEM, Birrell CE, Kelly RJ, Al-Aloul M, Sensitization of the mesoaccumbens dopamine response to nicotine. *Pharmacol Biochem Behav* 59 (1998) 1021-1030.
- [20] Sahraei H, Falahi M, Zarrindast MR, Sabetkasaei M, Ghoshouni H, Khalili M, The effects of nitric oxide on the acquisition and expression of nicotine-induced conditioned place preference in mice. *Eur J Pharmacol* 503 (2004) 81-87.
- [21] Vleeming W, Rambali B, Opperhuizen A, The role of nitric oxide in cigarette smoking and nicotine addiction. *Nicotine and Tobacco Research* 4 (2002) 341-348.
- [22] Shim I, Kim HT, Kim YH, Chun BG, Hahm DH, Lee EH, Kim SE, Lee HJ, Role of nitric oxide synthase inhibitors and NMDA receptor antagonist in nicotine-induced behavioral sensitization in the rat. *Eur J Pharmacol* 443 (2002) 119-124.
- [23] Rebec GV, Wang Z, Behavioral activation in rats requires endogenous ascorbate release in striatum. *J Neurosci* 21 (2001) 668-675.
- induced behavioral sensitization is associated with extracellular dopamine release and expression of c-Fos in the striatum and nucleus accumbens of the rat. *Behav Brain Res* 121 (2001) 137-147.
- [6] Pidoplichko VI, Noguchi J, Areola OO, Liang Y, Peterson J, Zhang T, Dani JA, Nicotine cholinergic synaptic mechanisms in the ventral tegmental area contribute to nicotine addiction. *Learning and Memory* 11 (2004) 60-69.
- [7] Di Chiara G, Role of dopamine in the behavioral actions of nicotine related to addiction. *Eur J Pharmacol* 93 (2000) 295-314.
- [8] Fu Y, Matta SG, Gao W, Brower VG, Sharp BM, Systemic nicotine stimulates dopamine release in nucleus accumbens: re-evaluation of the role of n-methyl-d-aspartate receptors in the ventral tegmental area. *J Pharmacol Exp Ther* 294 (2000) 458-465.
- [9] Pomerleau OF, Endogenous opioid and smoking: a review of progress and problems. *Psychoneuroendocrinology* 23 (1998) 115-130.
- [10] Grottick AJ, Trube G, Corrigan WA, Huwyler J, Malherbe P, Wyler R, Higgins GA, Evidence that nicotine  $\alpha_7$  receptors are not involved in the hyperlocomotor and rewarding effects of nicotine. *J Pharmacol Exp Ther* 294 (2000) 1112-1119.
- [11] Picciotto MR, Nicotine as a modulator of behavior: beyond the inverted U. *Trend Pharmacol Sci* 24 (2003) 493-499.
- [12] Rice ME, Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain. *Trends Neurosci* 23 (2000) 209-216.
- [13] Tolbert LC, Morris PE, Spollen JJ, Ashe SC, Streospecific effect of ascorbic acid and analogues of D1 and D2 agonist binding. *Life Sci* 51 (1992) 921-930.
- [14] Pierce RC, Rowlett JK, Rebec GV, Bardo MT, Ascorbate potentiates amphetamine-induced conditioned place preference and forebrain dopamine release in rats. *Brain Res* 688 (1995) 21-26.
- [15] Miquel M, Aguilar MA, Aragon CMG, Ascorbic acid