

The Effect of ascorbic acid injection into the lateral ventricle on spatial learning and memory in adult male rats

Mehdi Abbasnejad^{1*}, Sima Nasri², Habib Nazem³, Mehri Bahaaddini³

1. Dept. Biology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

2. Dept. Biology, Avaj and Tehran Center, Payame noor University, Tehran, Iran

3. Dept. Biology, Tehran Center, Payame noor University, Tehran, Iran

Received: 21 May 2008

Revised: 13 Aug 2008

Accepted: 24 Aug 2008

Abstract

Introduction: Ascorbic acid (AA) acts as an antioxidant in the central nervous system (CNS) of the mammals. It is released from some nerve endings together with neurotransmitters and previous studies have shown that ascorbic acid could affect learning as well as memory. In this study, the effect of intracerebro ventricular (ICV) injection of ascorbic acid on spatial learning and memory was examined by Morris water maze.

Methods: 42 adult male NMRI rats weighing 250-300 g were used in this study. Cannulas were implanted bilaterally in the lateral ventricles (LV) ($AP=-0.8$, $LA=\pm 1.5$, $DV=3.4$). After the recovery period, the animals were divided into 6 groups. The control group received no injection. Four groups were assigned as experimental groups and received different doses of ascorbic acid (25, 50, 100 and 150 mg/kg) and the 6th group was assigned as the sham-operated group that received normal saline as vehicle. Injections were given in 5 consecutive days. Thirty min after each injection the rats were trained in the Morris Water Maze (MWM) and spatial learning and memory parameters were recorded and then analyzed.

Results: ICV injection of ascorbic acid reduced spatial learning and memory in rats. This reduction reached statistical significance with the dose of 100 mg/kg of ascorbic acid.

Conclusion: It can be concluded that ascorbic acid decreases spatial learning and memory, which can be due to direct or indirect interference with the effects of neurotransmitters.

Keywords: Spatial learning and memory; Ascorbic acid; Lateral ventricle; Morris Water Maze.

* Corresponding author e- mail: mabbas@mail.uk.ac.ir
Available online @: www.phypha.ir/ppj

بررسی تأثیر تزریق درون بطنی اسید آسکوربیک بر یادگیری و حافظه‌ی فضایی در موش‌های صحرایی نر

مهدی عباس نژاد^{۱*}، سیما نصری^۲، حبیب ا... ناظم^۳، مهری بهالالدینی^۳

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان

۲. گروه زیست شناسی، مرکز آوج و تهران، دانشگاه پیام نور

۳. گروه زیست شناسی، مرکز تهران، دانشگاه پیام نور

دریافت: ۱ خرداد ۸۷ بازبینی: ۲ شهریور ۸۷ پذیرش: ۱۳ شهریور ۸۷

چکیده

مقدمه: اسید اسکوربیک به عنوان یک آنتی اکسیدانت در سیستم عصبی مرکزی پستانداران یافت می شود که به همراه بعضی نوروترانسمیترها آزاد می گردد و مطالعات نشان داده است که میتواند بر یادگیری و حافظه تأثیر داشته باشد. در پژوهش حاضر، اثرات اسید اسکوربیک بر یادگیری و حافظه‌ی فضایی به وسیله‌ی ماز آبی مورس مورد بررسی قرار گرفته است.

روش‌ها: در این مطالعه از تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر از نژاد NMRI در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم استفاده گردید، کانول گذاری دو طرفه در ناحیه‌ی بطن‌های جانبی با مختصات ($AP=-0.8$, $LA=\pm 1.5$, $DV=3.4$) صورت گرفت. پس از طی دوره ی بهبودی موش‌ها به ۶ گروه تقسیم شدند. گروه اول، گروه کنترل می‌باشند، که تزریقی را دریافت نمی‌کنند. چهار گروه دیگر دوزهای (۱۵۰ و ۱۰۰ و ۵۰ و ۲۵) اسید اسکوربیک را دریافت کردند. گروه ششم دریافت کننده ی حلال ۰/۹ درصد نرمال سالین می‌باشد. تزریق به مدت ۵ روز متوالی صورت گرفت. ۳۰ دقیقه پس از تزریق حیوان در ماز آبی مورس (MWM) قرار گرفته و شاخص‌های یادگیری و حافظه‌ی فضایی ثبت شده و مورد آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها: پژوهش حاضر نشان می دهد که اسید آسکوربیک در هر چهار دوز دریافت شده از میزان یادگیری و حافظه‌ی فضایی می‌کاهد و دوز (۱۰۰mg/kg) کاهش معنی داری را نشان می‌دهد.

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد که اسید آسکوربیک پس از تزریق در بطن‌های جانبی بطور مستقیم یا از طریق متأثر کردن سایر نوروترانسمیترها توانسته است یادگیری و حافظه‌ی فضایی را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: یادگیری و حافظه فضایی، اسید آسکوربیک، بطن جانبی، ماز آبی مورس.

مقدمه

غلظت‌های بالا، با انتشار متفاوت در قسمت‌های مختلف مغز پستانداران وجود دارد [۲۸]. این ویتامین علاوه بر نقش کوفاکتوری در واکنش‌های مختلف شیمیایی و آنزیمی یک ناقل عصبی در سیستم عصبی مرکزی پستانداران می باشد [۳۲ و ۱۲]. اسید آسکوربیک با غلظتی بیش از ۲۵۰ میکروگرم در کیلوگرم

آسکوربات از ویتامین‌های محلول در آب است که در

mabbas@mail.uk.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

اسید اسکوربیک یادگیری فضایی را به صورت وابسته به دوز تقویت کرد، ولی تزریق ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم باعث کاهش شدید میزان یادگیری فضایی شد. تزریق ۴ و ۸ میلی گرم اسیداسکوربیک به درون VTA نیز به ترتیب باعث افزایش و کاهش میزان یادگیری شد. در نتیجه مقادیر کم و متوسط اسید اسکوربیک یادگیری فضایی را بهبود می بخشد ولی دوز بالای آن یادگیری را مختل می کند [۱].

به نظر میرسد که در بسیاری از موارد آسکوربات شبیه به آنتاگونیست گیرنده ی دوپامینی عمل می کند [۳۸]. شواهد رفتاری هم عمل آنتی دوپامینرژیک آسکوربات را تایید می کنند [۲۳ و ۳۲]. شواهد تجربی نشان داده‌اند که آسکوربات قادر به تعدیل اثرات دوپامین و گلوتامات در مناطق مغز قدامی پستانداران است [۲۳ و ۳۲] و نشان داده شده است که سطوح خارج سلولی اسید آسکوربیک مغزی توسط نوروترانسمیترهای دوپامینرژیکی تنظیم می شود و این تنظیم در ساختارهای مغزی مختلف حاوی دوپامین متفاوت است [۳۱]. اسید آسکوربیک از نورون های گلوتاماترژیک نیز آزاد می شود. این روند، حداقل در قسمتی از مسیر خود توسط مکانیسم‌های دوپامینرژیک گیرنده‌های D1, D2 دوپامینی واسطه گری می شود، پس ترکیباتی مانند آگونیست‌های D1, D2 می‌توانند آزاد شدن آسکوربات از پایانه‌های عصبی گلوتاماترژیک را تسهیل نمایند، این اثر توسط آنتاگونیست‌های گیرنده دوپامینی بلوکه می‌شود [۳۲].

اسید آسکوربیک با غلظت کم، آگونیست سیستم گلوتامینرژیک و دوپامینرژیک است و با غلظت زیاد اثر آنتاگونیستی بر دو سیستم مذکور دارد [۳۲]. از آن جایی که این دو سیستم واسطه عصبی در انواع مختلف یادگیری و حافظه مشارکت فعال دارند، شکی وجود ندارد که اسید آسکوربیک می‌تواند از طریق این دو سیستم بر یادگیری و حافظه اثر گذارد [۳۲].

بعضی از مطالعات نشان داده‌اند که اسید آسکوربیک می‌تواند تحمل و وابستگی به مرفین را در انسان و جوندگان کاهش دهد [۸] و تحقیقات بیشتر نشان داده که گیرنده های اوپیوئیدی نیز با آسکوربات تداخل عمل دارند [۹]. اسید آسکوربیک بر گیرنده‌ی NMDA و مجموعه ی رفتارهای ناشی از آن نیز اثر مهاری دارد، در نتیجه همانند تعدیل رفتارهای دوپامینی، توانایی تعدیل انتقال گلوتاماترژیک و مجموعه رفتارهای ناشی از آن را نیز دارد [۳۲ و ۱۳ و ۱۰]. از سوی دیگر گزارشهایی نیز در مورد تداخل عمل

بافت تر در بسیاری از مناطق مغز جلویی از جمله جسم مخطط، هیپوتالاموس، هیپوکامپ و هسته‌ی آکومبوس یافت شده است [۲۰]. در مغز پستانداران غلظت بالایی از آن به ویژه در عقده‌های قاعده ای یافت می شود و در تعدیل مسیر دوپامینرژیک مزولیمبیک نقش دارد [۲۸]. این ویتامین در مغز تجمع پیدا کرده و به عنوان یک عامل آنتی اکسیدانت عمل کرده و بسیاری از مواد حاصل از متابولیسم را در فضاهای بین سلولی حذف می کند [۳۳].

در تحقیقی که بر روی تزریق درون صفاقی میان مدت اسید اسکوربیک بر یادگیری فضایی موش‌ها در ماز شعاعی صورت گرفت به این نتیجه دست یافتند که یادگیری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت، و البته دوز بالاتر اسیداسکوربیک تاثیر بیشتری در کاهش یادگیری داشته است، همچنین در موش هایی که به مرز یادگیری رسیده بودند حافظه کاری و مرجع فضایی نیز کمتر از موش های گروه کنترل بود [۲]. در صورتیکه تجویز طولانی مدت دهانی اسیداسکوربیک به موش های مسن تر بر خلاف تزریق کوتاه مدت درون صفاقی به موش های جوان نه تنها حافظه و یادگیری فضایی را مختل نکرد بلکه حافظه کاری را نیز تا حدودی بهبود بخشید و همچنین تزریق کوتاه مدت درون صفاقی اسید آسکوربیک یادگیری احترازی غیر فعال را نسبت به گروه کنترل بهبود داد [۳۵ و ۲].

در گزارش دیگری آمده است که آسکوربات (۱ gr/kg i.p.) به صورت تزریق محیطی به طور معنی داری سطح یادگیری اجتنابی را در جعبه ی شاتل کاهش می دهد [۷]. سیستم دوپامینی در موش های صحرایی در جسم مخطط نقش مهمی را در رفتارهای اجتنابی فعال بازی می کند که تزریق داخل صفاقی اسید آسکوربیک فعالیت مخالف آن را موجب می شود [۷].

در مطالعه ای دیگری نشان داده شد که اسیداسکوربیک با سه دوز (۱۰۰ و ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی و دو دوز (۸ و ۴ میکرولیتر) به درون هسته تگمنتوم شکمی^۱ (VTA) موش‌های صحرایی تزریق شد و اثر آن بر یادگیری فضایی با استفاده از ماز هشت پر شعاعی مورد بررسی قرار گرفت دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم

1. Ventral Tegmental Area

استفاده از اطلس پاکسینوس نواحی مربوط به کانول گذاری دو طرفه در بطن های جانبی ($AP=-0.8$, $DV=3.4$, $ML=\pm 1.5$) روی جمجمه علامت گذاری شدند [۳۰] و پس از سوراخ کردن جمجمه کانول راهنما به شماره ۲۲ روی منطقه مربوطه قرار گرفت و از سر سوزن ۲۷ بعنوان درپوش کانول تزریقی و برای تثبیت کانول ها از پیچ عینک و سیمان دندان پزشکی استفاده شد.

تزریق داروها به کمک سرنگ هاملتون ۱۰ میکرولیتری و با تکنیک پیش راندن حباب با استفاده از لوله پلی اتیلن شماره ۱۰ انجام شد. حجم تزریقی ده میکرو لیتر و مدت تزریق سه دقیقه و به مدت پنج روز متوالی بین ساعات ۸ تا ۹ صبح صورت می گرفت و ۳۰ دقیقه بعد حیوان در ماز آبی مورس قرار می گرفت. در پنجمین روز پس از پایان آزمایش، حیوان کشته شده و مغز آن بصورت تازه در فرمالین ۲۰ درصد جهت فیکس شدن قرار داده می شد. جمع آوری مغز حیوان جهت بررسی صحت جایگاه تزریق انجام می گرفت. پس از فیکس شدن با تهیه برش های ۲۰۰-۱۵۰ میکرونی و با روش رنگ آمیزی نیسل این روند مورد بررسی قرار می گرفت و در مواقعی که تزریق در محل مورد نظر نبود، داده ها مد نظر قرار نمی گرفت و آزمایشات مربوطه برای تعداد مورد نظر تکرار می گردید.

یادگیری فضایی یکی از انواع یادگیری است. ابزارهای متعددی این نوع یادگیری را در موش های صحرایی سنجش می کنند، یکی از آنها که در این زمینه کاربرد وسیعی دارد، ماز آبی مورس (MWM) است. این ماز از یک حوضچه ی استوانه ای شکل سیاه رنگ با قطر ۱۳۶ سانتیمتری و ارتفاع ۶۰ سانتیمتر که تا ارتفاع ۲۵ سانتیمتری با آب 1 ± 20 پر می شود. سکوی سیاه رنگی از جنس پلکسی گلاس با قطر ۱۰ سانتیمتر درون حوضچه یک سانتیمتری زیر سطح آب در مرکز یکی از چهار ربع حوضچه استوانه ای شکل به گونه ای قرار می گیرد که فاصله مرکز سکو از دیواره حوضچه و مرکز دایره به یک اندازه باشد. موقعیت سکو در طول آزمایشات ثابت باقی می ماند.

حیوانات در هر گروه به مدت چهار روز تحت آزمایش MWM قرار می گیرند. این آزمایش در هر روز به صورت یک بلوک مرکب از ۴ کارآزمایی انجام می شود. در هر کارآزمایی حیوان به گونه ای رها می شود که صورتش به طرف دیواره ی حوضچه باشد. چهار کارآزمایی در هر روز از چهار جهت شمال، جنوب، شرق، غرب به طور تصادفی بوسیله ی نرم افزار ردیاب

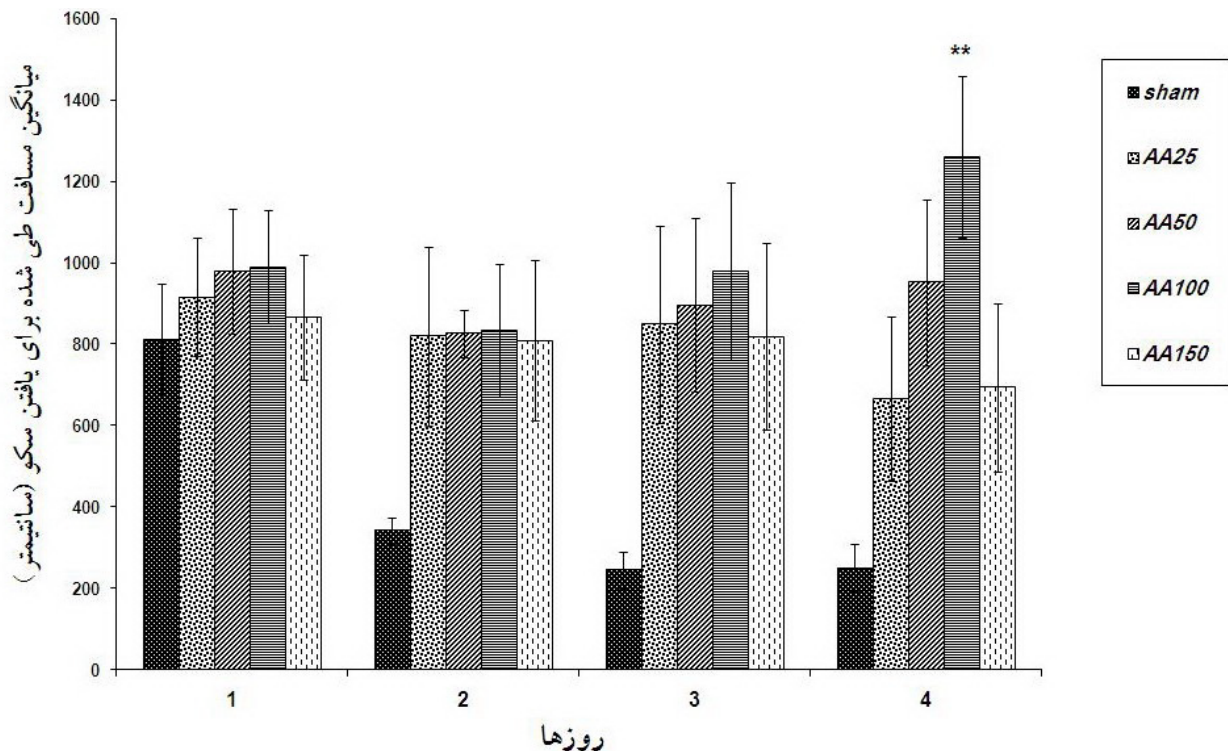
اسید آسکوربیک با نوروترانسمیترهای دیگر وجود دارد.

از آنجا که سیستم های عصبی مختلفی از جمله سیستم های گلوتاماترژیک، کولینرژیک، سروتونرژیک و دوپامینرژیک در رهایش اسید آسکوربیک دخیل می باشند [۱۳] و با توجه به اینکه همه ی این نوروترانسمیترها در فعالیتهای سیستم عصبی از جمله یادگیری و حافظه ی نقش دارند، و اسید آسکوربیک نیز در رهایش و اثر آنها مداخله دارد، لذا هدف تحقیق حاضر بررسی اثر تزریق مرکزی اسید آسکوربیک بر یادگیری و حافظه ی فضایی می باشد.

مواد و روش ها

۴۲ سر موش صحرایی نر در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم از نژاد NMRI در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. سپس در ۶ گروه هفت تایی شامل کنترل (بدون تزریق)، شم (دریافت کننده حلال آسکوربیک اسید) و گروه های دریافت کننده دوزهای (۱۵۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ mg/kg) اسید آسکوربیک تقسیم شدند، که گروه شم در هر بار تزریق ۱۰ میکرولیتر حلال اسید آسکوربیک را دریافت می کرد و گروه های دریافت کننده ی اسید آسکوربیک در هر بار به ترتیب ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم اسید آسکوربیک را به حجم ۱۰ میکرولیتر دریافت می کردند. هر گروه شامل ۷ سر موش بود که موش ها در شرایط استاندارد، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای 24 ± 2 درجه ی سانتی گراد نگهداری می شدند. در همه ی گروه ها غذا و آب به حد کافی در دسترس بود.

قبل از انجام مراحل جراحی حیوان با مخلوط کتامین ۱۰ درصد و گزیلازین ۲ درصد (به ازای هر کیلو گرم وزن بدن حیوان کتامین ۶۰ میلی گرم و گزیلازین ۴ میلی گرم) با تزریق داخل صفاقی بی هوش شدند [۴]. سپس سر حیوان در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفت، پس از آن میله ی دهانی ۳/۳ میلی متر زیر صفر افقی قرار می گرفت تا مطابق اطلس، وضعیت صاف جمجمه حاصل شود و بعد از آن حذف بافت های سطحی در حد فاصل بین چشم ها تا ناحیه پشت سر و مشخص شدن نواحی برگما و لامبدا بوسیله ی اسکالپل از وسط خط اتصالی زوایای خلفی چشم ها به طرف پشت سر تا حدود خط اتصالی گوش ها شکافی به طول ۲-۱/۵ سانتیمتر ایجاد می شد، با



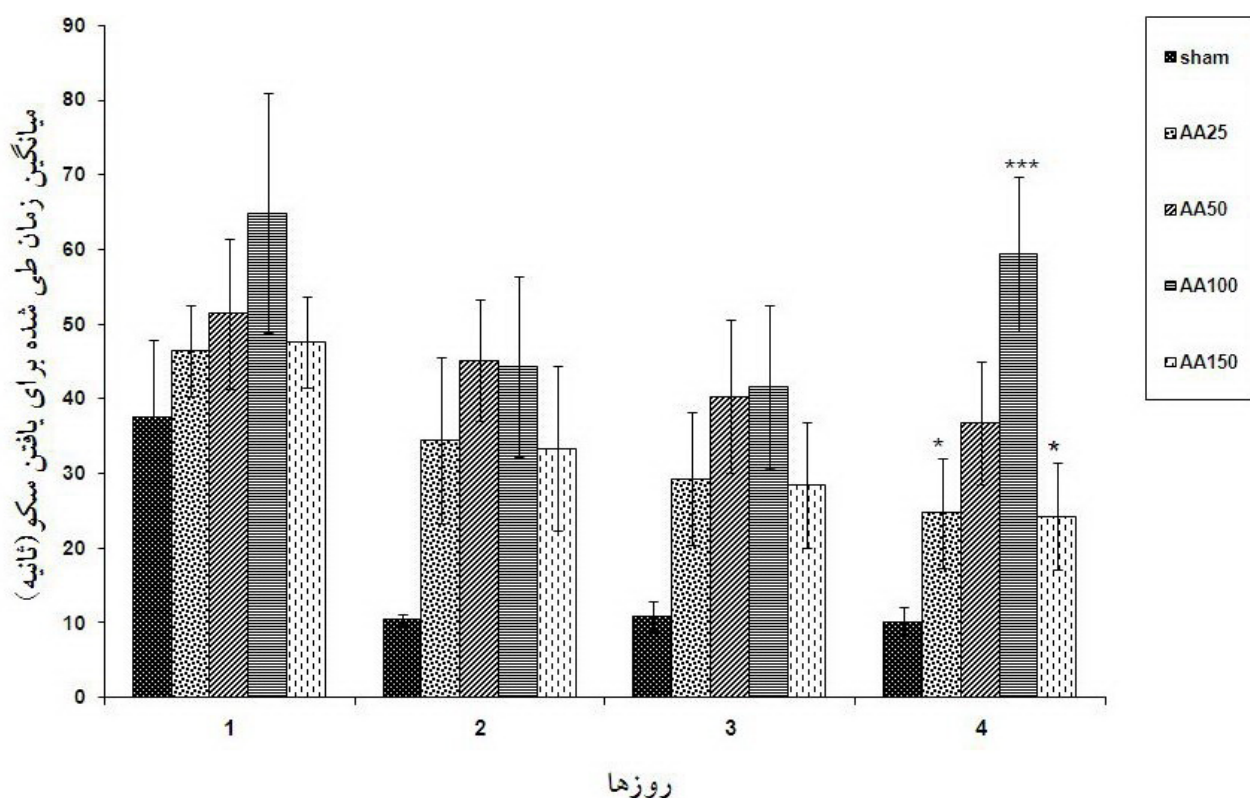
شکل ۱- مقایسه اثر تزریق درون بطن‌های جانبی اسید آسکوربیک بر میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو بر حسب سانتیمتر در گروه‌های دریافت‌کننده اسید آسکوربیک با دوزهای (۱۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ mg/kg) و گروه شاهد. دوز (۱۰۰ mg/kg) و شم دارای اختلاف معنی‌دار در روز چهارم می‌باشند ($p < 0.01$). AA=acid. $n=7$, ascorbic.

در آن قرار دارد)، تعداد عبور از ۴ شعاع R1, R2, R3, R4 استخراج و ذخیره می‌شد. در روز پنجم موش در حوضچه بدون سکو رها می‌شود. مسیر حرکت حیوان به مدت ۶۰ ثانیه ثبت شده و اطلاعات لازم نظیر مسافت طی شده در ربعی که قبلاً سکو در آن قرار داشته است، زمان طی شده در ربعی که سکو قبلاً در آن بوده و نیز تعداد عبور از شعاع‌های R1, R2, R3, R4 استخراج شده و مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرند [۲۵].

محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS صورت می‌گرفت و تفاوت در مدت زمان لازم برای یافتن سکو، مسافت طی شده و سرعت حرکت حیوان در روزهای آموزش و مدت زمان و مسافت طی شده توسط حیوان در ربع دایره هدف در روز پنجم توسط کامپیوتر ثبت شده و با روش آماری آنالیز واریانس (ANOVA) دو طرفه در چهار روز اول و یکطرفه در روز پنجم (probe) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین از آزمون tukey جهت تعیین میزان اختلاف استفاده شد. در کلیه آزمایش‌ها حداقل سطح معنی‌داری تفاوت‌ها $p < 0.05$ در نظر گرفته شد و داده‌ها در کلیه نمودارها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده است.

انتخاب می‌شود به طوری که از هر یک از این چهار نقطه شروع در هر روز یک بار استفاده می‌شود. برای شروع آزمایش موش از یکی از نقاط شروع درون حوضچه رها می‌شود و ۹۰ ثانیه به موش فرصت داده می‌شود سکوی مخفی را در زیر آب بیابد. چنانچه موش توانست در این مدت سکو را پیدا کند به حیوان اجازه داده می‌شود به مدت ۳۰ ثانیه روی سکو بماند [۲۵].

چنانچه در مدت ۹۰ ثانیه حیوان نتوانست موقعیت سکو را پیدا نماید، حیوان از درون آب خارج شده و به روی سکو منتقل می‌شود. پس از اتمام ۳۰ ثانیه روی سکو، موش از درون حوضچه خارج شده و ۱۰ ثانیه بعد از نقطه شروع دوم رها می‌شود. این عمل تا پایان کارآزمایی چهارم انجام می‌شود. بعد از اتمام کارآزمایی چهارم موش‌ها به آرامی با حوله خشک شده، مدتی گرم نگاه داشته شده و سپس به قفس خود باز گردانده می‌شوند. در هر کارآزمایی، نمایش حرکت موش بوسیله یک دوربین که در بالای حوضچه نصب است فیلم برداری شده و توسط نرم افزار ردیاب ابتدا پردازش شده و سپس اطلاعاتی نظیر شنا کردن، زمان کل سپری شده برای یافتن سکو، مسافت کل طی شده برای یافتن سکو، زمان و مسافت طی شده در ربع هدف (ربعی که سکو



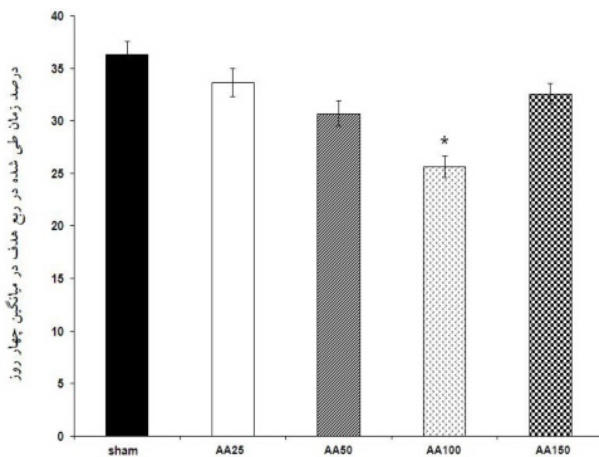
شکل ۲- مقایسه اثر تزریق درون بطن‌های جانبی اسید آسکوربیک بر میانگین زمان طی شده برای یافتن سکو بر حسب ثانیه در گروه‌های دریافت کننده‌ی اسید آسکوربیک با دوزهای (۱۵۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵) و گروه شاهد. دوز (۱۰۰ mg/kg) اسید آسکوربیک با گروه شم در روز چهارم دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0.001$) و همچنین بین دوز (۱۵۰ و ۱۰۰) و دوز (۲۵ mg/kg) اختلاف ($p < 0.05$) می‌باشد. AA=acid ascorbic. $n=7$.

یافته‌ها

مقایسه‌ی گروه کنترل (که در آن هیچ تجویزی صورت نگرفته بود) با گروه شاهد نشان داد که بین این دو گروه اختلاف معنی داری وجود ندارد، بنابراین جهت انجام سایر مقایسه‌ها از گروه شاهد استفاده شد. در ضمن میانگین سرعت طی شده برای یافتن سکو بین گروه‌ها در چهار روز اول آزمایش و نیز روز پنجم با گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان نداد.

چهار روز اول در این ارزیابی مربوط به یادگیری فضایی می‌باشد، که نتایج حاصل از آنالیز واریانس دو طرفه نشان می‌دهد که: تزریق داخل بطنی اسید آسکوربیک در چهار دوز (۱۵۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵) باعث افزایش در میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو شده است که در دوز (۱۰۰ mg/kg) اسید آسکوربیک اختلاف معنی‌دار ($p < 0.01$) را با گروه شم در روز چهارم یادگیری داشته است. با توجه به اینکه هر چه مسافت طی شده برای یافتن سکو بیشتر باشد نشانه‌ی

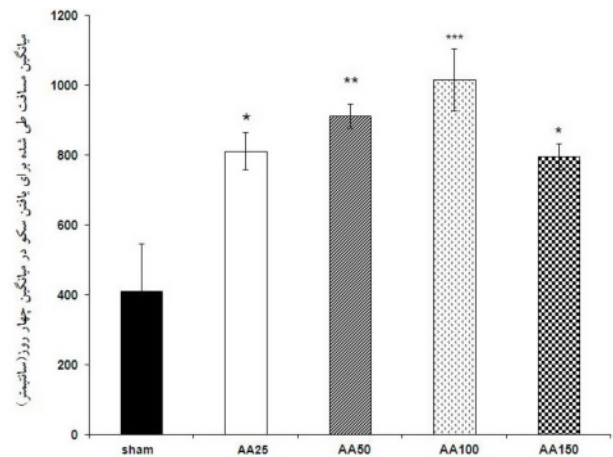
این است که یادگیری موش کاهش یافته است در این دوز کاهش معنی‌داری در یادگیری ایجاد شده است [$F(4,30)=4.164$, $p=0.008$] (شکل ۱). بررسی میانگین زمان طی شده برای یافتن سکو نشان داد که اسید اسکوربیک با غلظت (۱۰۰ mg/kg) اختلاف معنی‌دار ($p < 0.001$) با گروه شم در روز چهارم دارد و همچنین در همین خصوص غلظت ۱۵۰ و ۱۰۰ دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) و نیز غلظت ۲۵ و ۱۰۰ نیز دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشند. می‌دانیم که هر چه زمان طی شده برای یافتن سکو بیشتر باشد کاهش در یادگیری را موجب شده است، در نتیجه غلظت (۱۰۰ mg/kg) اسید اسکوربیک به طور معنی‌داری یادگیری را کاهش داده است [$F(4,30)=6.011$, $p=0.001$] (شکل ۲). همچنین توسط میانگین مسافت طی شده در میانگین چهار روز آموزش و یادگیری، مشخص شده که در دوزهای (۲۵ mg/kg) ($p < 0.05$)، (۵۰ mg/kg) ($p < 0.01$)، (۱۰۰ mg/kg) ($P < 0.001$) و دوز (۱۵۰ mg/kg) ($p < 0.05$) اسید آسکوربیک نسبت به گروه شاهد اختلاف



شکل ۵- مقایسه اثر تزریق درون بطن‌های جانبی اسید آسکوربیک بر میانگین درصد زمان طی شده در ربع هدف در میانگین چهار روز آموزش در گروه‌های دریافت‌کننده اسید آسکوربیک با دوزهای (۱۵۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ mg/kg) و گروه شاهد. اختلاف نسبت به گروه شام و اسید آسکوربیک (۱۰۰ mg/kg) نشان داده شده است ($p < 0.05$). $n=7$, AA=acid ascorbic.

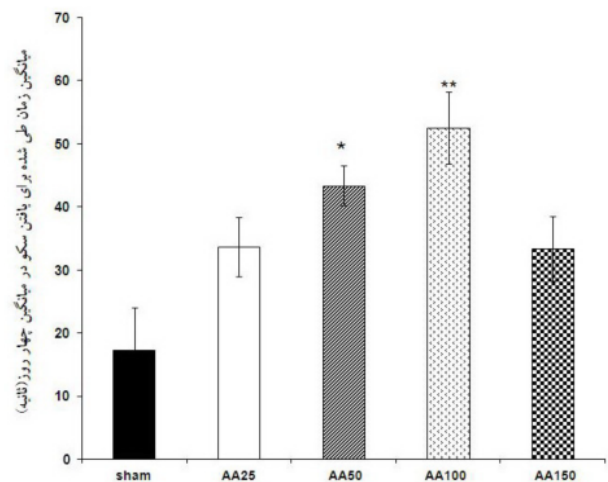
میانگین درصد زمان در ربع هدف در میانگین چهار روز نشان می‌دهد که، اسید آسکوربیک با غلظت (mg/kg) ۱۰۰ ($p < 0.05$) نسبت به گروه شام از میزان زمان حرکت در ربع هدف کاسته است [$F(4,15)=3.565$, $p=0.031$] (شکل ۵).

- در مورد تأثیر این ماده بر حافظه ی فضایی که شامل نتایج روز پنجم می باشد و توسط آنالیز واریانس یک طرفه صورت گرفته، نشان داده شده است که: تعداد دفعات عبور از شعاع‌های دو طرف ربع هدف در روز آزمون حافظه برای غلظت (mg/kg) ۱۰۰ تفاوت معنی‌دار ($p < 0.01$) را با گروه شام نشان می‌دهد. با دانستن این مطلب که هر چه تعداد عبور از شعاع‌های دو طرف ربع هدف کاهش یابد یادگیری و حافظه نیز کاهش می‌یابد، متوجه می‌شویم که اسید آسکوربیک از میزان حافظه کاسته است [$F(4,30)=3.762$, $p=0.014$] (شکل ۶) و در خصوص درصد مسافت طی شده در ربع هدف در روز پنجم تفاوت معنی‌دار ($p < 0.01$) بین اسید اسکوربیک با غلظت (mg/kg) ۱۰۰ و گروه شام دیده می‌شود [$F(4,30)=4.136$, $p=0.009$] (شکل ۷)، در ادامه اسید آسکوربیک با غلظت (mg/kg) ۱۰۰ ($p < 0.001$) و با غلظت (mg/kg) ۵۰ ($p < 0.05$) نسبت به گروه شام درصد زمان را در ربع هدف در روز پنجم کاهش داده است [$F(4,30)=5.559$, $p=0.002$] (شکل ۸).

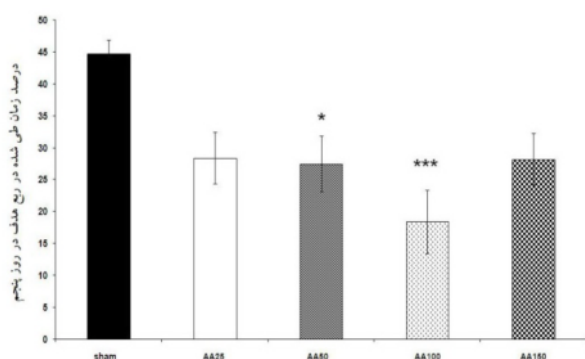


شکل ۳- مقایسه اثر تزریق درون بطن‌های جانبی اسید آسکوربیک بر میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو بر حسب سانتیمتر در میانگین چهار روز آموزش در گروه‌های دریافت‌کننده اسید آسکوربیک با دوزهای (۱۵۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ mg/kg) و گروه شاهد. اختلاف نسبت به گروه شام و اسید آسکوربیک (۱۵۰ mg/kg) ($p < 0.05$), گروه شام و اسید آسکوربیک (۱۰۰ mg/kg) ($p < 0.001$), گروه شام و اسید آسکوربیک (۵۰ mg/kg) ($p < 0.01$) و گروه شام و اسید آسکوربیک (۲۵ mg/kg) ($p < 0.05$) نشان داده شده است. $n=7$, AA=acid ascorbic.

معنی‌دار مشاهده می‌شود [$F(4,15)=8.354$, $p=0.001$] (شکل ۳). آسکوربات با غلظت‌های (mg/kg) ۱۰۰ ($p < 0.01$) و غلظت (mg/kg) ۵۰ ($p < 0.05$) تفاوت معنی‌داری را در میانگین زمان طی شده برای یافتن سکو در میانگین چهار روز با گروه شام دارند [$F(4,15)=6.388$, $p=0.003$] (شکل ۴) و

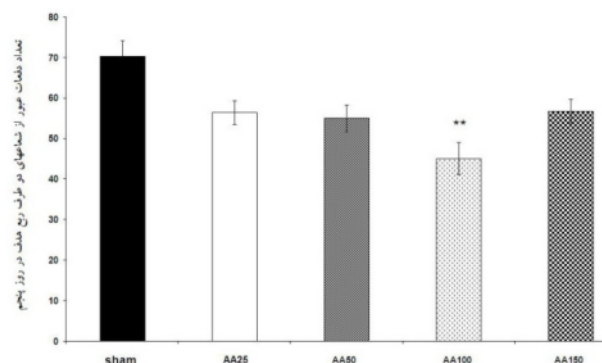


شکل ۴- مقایسه اثر تزریق درون بطن‌های جانبی اسید آسکوربیک بر میانگین زمان طی شده برای یافتن سکو در میانگین چهار روز آموزش در گروه‌های دریافت‌کننده اسید آسکوربیک با دوزهای (۱۵۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ mg/kg) و گروه شاهد. دوز (mg/kg) ۱۰۰ با گروه شام دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0.01$) و دوز (mg/kg) ۵۰ با گروه شام دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشد. AA=acid ascorbic. $n=7$.



شکل ۸- مقایسه اثر تزریق درون بطن‌های جانبی اسیدآسکوربیک بر درصد زمان طی شده در روز پنجم در ربع هدف در گروه‌های دریافت کننده اسید آسکوربیک با دوزهای (۱۵۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵ mg/kg) و گروه شاهد. اختلاف نسبت به گروه شم و اسید آسکوربیک (۱۰۰ mg/kg) ($***p < 0.001$) و گروه شم و اسیدآسکوربیک (۱۵۰ mg/kg) ($*p < 0.05$) نشان داده شده است. AA=acid ascorbic، n=7.

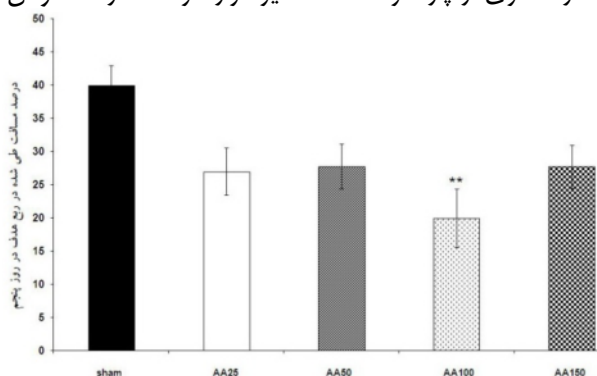
اینکه دوز (۱۵۰ mg/kg) نسبت به دوز (۱۰۰ mg/kg) باعث ایجاد اختلال کمتری در یادگیری و حافظه شده است، شاید بتوان گفت همانطور که تحقیقات قبلی نشان داده اند، این ترکیب در دوزهای متفاوت مداخله متفاوت و بعضاً متضادی بر عملکرد سایر نوروترانسمیترها می گذارد [۱۲]، همچنین باید در نظر داشت که دوز (۱۵۰ mg/kg) در مقایسه با گروه شاهد باعث بهبودی حافظه و یادگیری فضایی نشده است، بلکه نسبت به دوز (۱۰۰ mg/kg) به میزان کمتری در حافظه و یادگیری اختلال ایجاد کرده است. دوره تزریق (که در اینجا کوتاه مدت بوده است)، محل تزریق متفاوت و بالطبع نواحی عصبی متعدد و فضای توزیع متفاوت می تواند منجر به ایجاد نتایج مختلف نسبت به پژوهش های انجام شده (مانند تزریق محیطی) گردد و همچنین نمی توان انتظار داشت که تزریق مرکزی یک ماده یا نوروترانسمیتر شبیه به اثرات محیطی آن باشد و روش انجام مطالعه نیز می تواند نتایج را تحت تاثیر قرار دهد. از طرفی نتایج این مطالعه با نتایج کلی که در خصوص ترکیبات آنتی اکسیدان بر حافظه گزارش گردیده تناقض دارد چون اصولاً این ترکیبات تقویت کننده ی حافظه می باشند اما در مورد اسید آسکوربیک علی رغم اینکه آنتی اکسیدان خوبی است باعث کاهش یادگیری و حافظه ی فضایی شده است (نمودارهای ۱ تا ۸)، همچنین در تزریقات محیطی متعددی نیز کاهش میزان حافظه و یادگیری دیده می شود [۱۲و۱۳]. اثر آنتی اکسیدانی اسید آسکوربیک در همه سلولها وجود دارد [۳۳] اما اثر آن بعنوان یک ترکیب مداخله



شکل ۶- مقایسه اثر تزریق درون بطن‌های جانبی اسید آسکوربیک بر تعداد دفعات عبور از شعاع‌های دو طرف ربع هدف در روز پنجم در گروه‌های دریافت کننده ی اسید آسکوربیک با دوزهای (۱۵۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵ mg/kg) و گروه شاهد. اختلاف نسبت به گروه شم و اسید آسکوربیک (۱۰۰ mg/kg) نشان داده شده است ($**p < 0.01$). AA=acid ascorbic، n=7.

بحث

در این مطالعه اثر تزریق درون بطنی اسید آسکوربیک بر فرایندهای یادگیری و حافظه ی فضایی در موش های صحرایی به وسیله ی مدل ماز آبی موريس مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تزریق داخل بطنی اسید آسکوربیک با دوز (۲۵ mg/kg) مقدار اندکی از پارامترهای یادگیری و حافظه را متأثر کرد و دوز (۵۰ mg/kg) تأثیر کمی بیشتر و در دوز (۱۰۰ mg/kg) موجب کاهش یادگیری و حافظه ی فضایی به صورت معنی‌دار گردید و در ادامه در دوز (۱۵۰ mg/kg) مقدار کمتری از پارامترها تحت تأثیر قرار گرفتند. در خصوص



شکل ۷- مقایسه اثر تزریق درون بطن‌های جانبی اسید آسکوربیک بر درصد مسافت طی شده در روز پنجم در ربع هدف در گروه‌های دریافت کننده ی اسید آسکوربیک با دوزهای (۱۵۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵ mg/kg) و گروه شم. اختلاف نسبت به گروه شاهد و اسید آسکوربیک (۱۰۰ mg/kg) نشان داده شده است ($*p < 0.05$). AA=acid ascorbic، n=7.

حافظه می‌شوند [۵]. مطالعات نشان داده است که آسکوربات در دوزهای بالا (۵۰۰-۱۰۰۰ mg/kg) به صورت آنتاگونیست گیرنده‌ی NMDA عمل می‌کند [۲۶] و ممکن است آسکوربات با آنتاگونیزه کردن گیرنده‌ی NMDA در VTA موجب کاهش آزادسازی دوپامین گردد [۶] که کاهش فرایند یادگیری و حافظه‌ی فضایی را بدنبال خواهد داشت. از سوی دیگر سروتونین نیز موجب رهایش مرکزی اسید اسکوربیک می‌شود [۱۳] و می‌تواند از طریق مهار عمل گیرنده‌ی NMDA در نورون پس سیناپسی باعث مهار تقویت طولانی مدت در ناحیه‌ی هیپوکامپ گردد [۲۷]. این پدیده می‌تواند یکی از علل کاهش یادگیری و حافظه توسط اسید اسکوربیک باشد که نیاز به مطالعه‌ی بیشتری دارد.

همانند تعدیل رفتارهای دوپامینی اسید آسکوربیک توانایی تعدیل انتقال گلوتاماترژیک و مجموعه رفتارهای ناشی از آن را نیز دارد [۱۱ و ۱۳ و ۳۲]. مطالعات مختلف نشان داده که تحریک گیرنده‌های NMDA سیستم گلوتاماترژیک موجب آزاد شدن دوپامین [۱۶ و ۱۸] و تعدیل اثر اپیوئیدی در محور جسم سیاه-استراتیوم می‌شود [۲۴]. با توجه به اثر مهاری اسید آسکوربیک بر گیرنده‌ی NMDA و مجموعه رفتارهای ناشی از فعالیت آن [۱۱ و ۱۳ و ۳۲] به نظر می‌رسد که قسمتی از اثر اسید آسکوربیک بر روند حافظه و یادگیری از طریق مکانیسم‌های گلوتاماترژیک واسطه‌گری شود، که این فرضیه با مطالعات تکمیلی قابل بررسی است.

مطالعات اخیر نشان داده است که داروهای اعتیاد آور در جسم مخطط و هسته آکامبنس رهایش اسید اسکوربیک را القا می‌کنند [۸ و ۱۷]. و همچنین مرفین می‌تواند غلظت خارج سلولی اسید آسکوربیک را افزایش دهد [۸ و ۱۰] و با توجه به اینکه مورفین از آگونیست‌های اپیوئیدی می‌باشد و یادگیری و حافظه تحت تأثیر اپیوئیدها قرار می‌گیرد [۱۹] و عملکرد حافظه را دچار اختلال می‌کند [۳] و هم چنین بررسی‌ها مشخص کرده که آسکوربات با پپتیدهای اپیوئیدی تداخل عمل دارد [۹] و آگونیست‌های اپیوئیدی تمایل بالایی برای گیرنده‌های μ -اپیوئیدی که در ترمینال‌های کولینرژیکی وجود دارند، دارا می‌باشد و با اتصالشان به این گیرنده‌ها باعث مهار فعالیت کولینرژیکی در هیپوکامپ شده و باعث کاهش رهایی استیل کولین در بسیاری از نواحی مغزی می‌شوند [۲۱]. از سوی دیگر

کننده در اثر سایر نوروترانسمیترها در همه نواحی عصبی یکسان نیست و در واقع اثر شیمیایی این ترکیب از طریق مداخله در عملکرد سایر نوروترانسمیترها از جمله دوپامین، گلوتامات و سروتونین [۱۳] بر تأثیر آنتی اکسیدانی آن بر یادگیری پیشی می‌گیرد، به بیان دیگر اثر آن در خصوص تنظیم فعالیت نورون‌ها یک اثر اختصاصی و وابسته به نوع نورون، نوع ماده میانجی و ناحیه آناومیک است، اما اثر آنتی اکسیدانی این ترکیب یک اثر عام است.

با توجه به نتایج به نظر می‌رسد که اثر تزریق مرکزی اسید آسکوربیک همانند اثر محیطی که قبلاً گزارش شده است [۷ و ۲]، موجب کاهش در یادگیری و حافظه گردیده است. یکی از عللی که توجیه می‌کند که تجویز اسید آسکوربیک باعث تخریب روندهای یادگیری و حافظه می‌شود، وابستگی این ماده با سیستم دوپامینرژیکی می‌باشد. با توجه به اینکه آسکوربات شبیه به آنتاگونیست‌های گیرنده‌ی D2 عمل می‌کند [۲۳ و ۳۲ و ۳۸] و طبق تحقیقات بعمل آمده آنتاگونیست گیرنده‌های D2 مانند سولپیراید از طریق بلوکه کردن گیرنده‌های پیش سیناپسی باعث تخریب حافظه می‌گردند [۱۷]، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که اسید آسکوربیک پس از تزریق در بطن‌های جانبی با مداخله کردن در کار گیرنده‌های پیش سیناپسی باعث کاهش یادگیری و حافظه می‌گردند. از سوی دیگر ورودی‌های دوپامینرژیک از VTA به ناحیه‌ی هیپوکامپ وارد می‌شوند [۲۲]، نورون‌های دوپامینرژیک این ناحیه از مغز تحت مهار دائمی اینترنورون‌های گاباژرژیک قرار دارند [۳۹] و نورون‌های دوپامینرژیک مذکور از طریق اثر بر گیرنده‌های D1/D5 دوپامینی بر روی سلول‌های پیرامیدال ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ اثر نموده و در ایجاد حافظه‌ی طولانی مدت این ناحیه مؤثر است [۲۲]. با توجه به نقش آنتی دوپامینرژیکی اسید آسکوربیک [۳۸] ممکن است اسید آسکوربیک با تأثیر بر گیرنده‌های D1/D5 دوپامینی موجب کاهش حافظه و یادگیری در این ناحیه گردند.

همچنین تحقیقات نشان داده است که فعال شدن گیرنده‌های NMDA در روند یادگیری و حافظه‌ی فضایی نقش اساسی دارند [۳۴ و ۴۱]. تجویز آنتاگونیست‌های رقابتی گیرنده‌ی NMDA مانند AP5 و یا استفاده از آنتاگونیست غیر رقابتی MK-801 گیرنده مذکور موجب تضعیف یادگیری و

منابع

- [۱] اسماعیلی محمدحسین، دودانگه احسان، شریفی مریم، اثر اسید آسکوربیک بر یادگیری فضایی. *مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی قزوین* ۲۴ (۱۳۸۱) ۳ تا ۸.
- [۲] عطروش نازنین، قدرتی مرضیه، بررسی تاثیر اسید آسکوربیک بر حافظه و یادگیری موش های صحرایی نر. *طرح تحقیقاتی دانشکده علوم پزشکی همدان* ۱۳۸۴.
- [3] Andrzej JP, Tomas ZK, Effect of L – Arginine on memory in rats. *Pol Pharmacol* 55 (2003) 987-992.
- [4] Baptista T, Contreras Q, Teneud L, Albornoz MA, Mechanism of the neuroleptic – induced obesity in female rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol psychiatry* 22 (1998) 187-198.
- [5] Castellano C, Cestari V, Ciamei A, NMDA receptors and learning and memory processes. *Curr Drug Targets* 2 (2001) 273-283.
- [6] Chen BT and Rice ME, Synaptic regulation of somatodendritic dopamine release by glutamate and GABA differs between substantia nigra and ventral tegmental area. *J Neurochem* 81 (2002) 158-169.
- [7] Desole MS, Anania V, Esposito G, Carboni F, Senini A, Miele E, Neurochemical and behavioural changes induced by ascorbic acid and d-amphetamine in the rat. *Pharmacol Res* 19 (1987) 441-450.
- [8] Desole M.S, Esposito G, Fresu L, Migheli R, Enrico p, Mura MA, Effects of morphine treatment and withdrawal on striatal and limbic monoaminergic activity and ascorbic acid oxidation in the rat. *Brain Res* 723 (1996) 154-161.
- [9] Dunlap CE and Lesile FM, Effect of ascorbate on the toxicity of morphine in mice. *Neuropharmacology* 24 (1985) 797-804.
- [10] Enrico p, Esposito G, Mura MA, Fresu L, De Natale G, Miele E, Desole MS, Miele M, Effect of morphine on striatal dopamine metabolism and ascorbic and uric acid release in freely moving rats. *Brain Res* 745 (1997) 173-182.
- [11] Enrico p, Mura MA, Esposito G, Serra P, Migheli R, De Natale G, Effect of naloxone on morphine-induced changes in striatal dopamine metabolism and glutamate,

رهای استیل کولین در هیپوکامپ، جسم مخطط و آمیگدال وجود دارد و استیل کولین فعالیت سیستم های عصبی مسئول پردازش انواع مختلفی از حافظه و یادگیری را تعدیل می کند [۱۵] در نتیجه می توان گفت که امکان دارد اسید آسکوربیک از طریق مداخله با سیستم کولینرژیکی موجب کاهش یادگیری و حافظه ی فضایی می شود.

مطالعات بیشتر روشن کرده است که تجویز اسید آسکوربیک باعث کاهش فعالیت سیستم گلوتاماتی موجود در هسته ی آکومبنس، تگمنتوم شکمی و یا نواحی دیگر شده است و احتمال دارد که بدین ترتیب با اثرات اسید آسکوربیک مخالفت می کند [۱۸] و کاهش گلوتامات یادگیری و حافظه ی فضایی را دچار اختلال خواهد نمود.

با توجه به خاصیت اسیدی اسید آسکوربیک و تزریق داخل بطنی این ماده شاید بتوان گفت که کاهش میزان pH منجر به کاهش یادگیری و حافظه شده است، با توجه به مطالعاتی که به صورت محیطی انجام گرفته و موجب کاهش میزان یادگیری و حافظه شده است [۸ و ۹]، تزریق این ترکیب بعلت حجم بسیار کم و غلظت ناچیز در مقایسه با سیستم بافری خون اثر قابل توجهی بر میزان pH نداشته اما باعث کاهش یادگیری شده است [۲۱]، بنابراین علی رغم اینکه سیستم بافری مایع مغزی نخاعی تا حدودی متفاوت است مع ذلک نباید تمامی مکانیسم اثر آن را به تغییرات pH مربوط دانست، البته ثابت شده است که افزایش اسیدیتته محیط نورون ها فعالیت آن ها را کاهش می دهد [۲۱]، اما تفاوت اثر دوز (۱۵۰ mg/kg) با دوز (۱۰۰ mg/kg) نیز خود توجه کننده این است که نباید نگاه زیادی به تغییرات pH داشت.

در یک نتیجه گیری کلی می توان بیان کرد که اسید آسکوربیک تاثیر مخربی را بر یادگیری و حافظه ی فضایی دارد. این تخریب می تواند مکانیسم های متعددی را بدنبال داشته باشد، همانطور که بیان شد، مداخله در سیستم های گلوتاماترژیکی، دوپامینرژیکی، کولینرژیکی و یا دیگر نوروترانسمیترها [۱۳] می تواند منجر به ایجاد این اختلال گردد، یا احتمال دارد کاهش یادگیری و حافظه ناشی از تأثیر مستقیم این ماده باشد. در هر حال تحقیقات مکمل می تواند پاسخگوی ابهامات موجود در این زمینه باشد.

- [23] Majewska MB, Bell JA and London ED, Regulation of the NMDA receptor by redox phenomena-Inhibitory role of ascorbate. *Brain Res* 537 (1990) 328-332.
- [24] Martin G, Nie Z, Siggins GR, Mu-opioid receptors modulate NMDA receptor-mediated responses in nucleus accumbens neurons. *J Neurosci* 17 (1997) 11-22.
- [25] McNamara RK, Skelton RW, The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in the Morris water maze. *Brain Res Rev* 18 (1993) 33-49.
- [26] Miele M, Enrico p, Esposito G, Fresu L, Cortical ablation and drug-induced changes in striatal ascorbic acid oxidation and behavior in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 50 (1995)1-7.
- [27] Moyano S, Delrio J, Frechilla D, Role of hippocampal caMKII in serotonin 5-HT_{1A} receptor-mediated learning deficits in rats. *Neuropsychopharmacology* 29 (2004) 2216-2224.
- [28] Oke AF, May L, and Adams, RN, Ascorbic acid distribution patterns in human brain, A comparison with nonhuman mammalian species. *Ann NY Acad, sci* 498 (1987) 1-12.
- [29] Parle M, Dhirga D, Ascorbic Acid: a promising memory-enhancer in mice. *J Pharmacol Sci* 93 (2003) 129-35.
- [30] Paxinos G, Watson C, *The rat brain in stereotaxic coordinates*, 4th Ed, Academic Press New York. (1998).
- [31] Phebus LA, Roush ME, Glemens JA, Effect of direct and indirect dopamine agonists on brain extracellular ascorbate levels in the striatum and nucleus accumbens of awake rats. *Life Sci* 47 (1990) 1317-1323.
- [32] Rebec GV and Pierce CP, A Vitamin as neuromodulator: ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulates dopaminergic and glutaminergic transmission. *Prog Neurobiol* 43 (1994) 537-565.
- [33] Rice ME, Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain. *Trends Neurosci* 23 (2000) 209-216.
- [34] Roesler R, Schroder N, Vianna MR, Quevedo J, Bromberg E, Kapczinski F, Ferreira MB, Differential involvement of hippocampal and amygdalar NMDA receptors in contextual and aversive aspects of inhibitory avoidance memory in rats. *Brain Res* 975 (2003) 207-213.
- [35] Shahidi S, Komaki A, Mahmoodi M, Atrvash N and Ghodrati M, Ascorbic acid supplementation could affect passive avoidance learning and memory in rat. *Brain* ascorbic acid and uric acid release in freely moving rats. *Brain Res* 797 (1998) 94-102.
- [12] Ewing AG, Alloway KD, Curtis SD, Dayton MA, Wightman Rm, Rebec GV, Simultaneous electrochemical and until recording measurements: characterization of the effects of D-amphetamine and ascorbic acid on neostriatal neurons. *Brain Res* 261 (1983) 101-108.
- [13] Gardiner TW, Armstrong-James M, Caan AW, Wightman RM, Rebec GV, Modulation of neostriatal activity by iontophoresis of ascorbate potentiates the effects of chronic haloperidol on behavioral super sensitivity but not D₂ dopamine receptor binding. *Neuroscience* 45 (1991) 373-378.
- [14] Georges F, Le Moine C, Aston-Jones G, No effect of morphine on ventral tegmental dopamine neurons during withdrawal. *J Neurosci* 21 (2006) 5720-5726.
- [15] Gold PE, Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory. *Neurobiol Learn Mem* 80 (2003) 194-210.
- [16] Huang NK, Tseng CJ, Wong CS, Tung CS, Effect of acute and chronic morphine on DOPAC and glutamate at subcortical DA terminals in awake rats. *Pharmacol Biochem Behav* 56 (1997) 363-371.
- [17] Ichihara K, Nabeshima T and Kameyama T, Effects of haloperidol, sulpiride and SCH 23390 on passive avoidance learning in mice. *Eur Pharmacol* 151 (1988) 435-442.
- [18] Imperato A, Scrocco MG, Bacchi S, Angelucci L, NMDA receptors and in vivo dopamine release in the nucleus accumbens and caudatus. *Eur J Pharmacol* 187 (1990) 555-556.
- [19] Jafari MR, Zarrindast MR, Djahanguiri B, Influence of cholinergic system modulators on morphine state dependent memory of passive avoidance in mice. *Physiol Behav* 88 (2006) 146-151.
- [20] Allison JH, Stewart MA, Myo-inositol and ascorbic acid in developing rat brain. *Neurochem* 20 (1973) 1785-1788.
- [21] Kandel ER, *Principles of neural science*. 4th ed. USA: Appleton and Lange Norwalk 2000, P.1009-1031.
- [22] Lemon N, Manahan-Vaughan D, Dopamine D₁/D₅ Receptors Gate the Acquisition of Novel Information through Hippocampal Long-Term potentiation and Long Term Depression. *J Neurosci* 26 (2006) 7723-7729.

- [39] Vihavainen T, Mijatovic J, Piepponen TP, Tuominen RK, Ahtee L, Effect of morphine on locomotor activity and striatal monoamine metabolism in nicotine withdrawn mice. *Behav Brain Res* 173 (2006) 85-93.
- [40] Yang ZJ, Blaha V, Meguid MM, Laviano A, Interleukin –alpha injection in to ventromedial hypothalamic nucleus of normal rats depresses food intake and increases release of dopamine and serotonin. *Pharmacol Biochem behaves* 62 (1999).
- [41] Yoshihara T, Ichitani Y, Hippocampal N-methyl-D-aspartate receptor-mediate encoding and retrieval processes in spatial working memory: delay-interposed radial maze performance in rats. *Neuroscience* 129 (2004) 1-10.
- Res* (2008) Article in press.
- [36] Stamford JA, Isaac D, Hicks CA, Ward MA, Osborne DJ, Oneill MJ, Ascorbic acid is neuro protective against global ischaemia in stratum but not hippocampus: histological and voltametric data. *Brain Res* 835 (1999) 229-240.
- [37] Stamford JA, Kuruk ZL, Millar J, Regional differences in extracellular ascorbic acid levels in the rat brain determined by high speed cyclic voltametry. *Brain Res* 299 (1984) 289-295.
- [38] Tolbert LC, Morris PEJ, Spollen JJ and Ashe SC, Stereospecific effects of ascorbic acid and analogues on D1 and D2 agonist binding. *Life Sci* 51 (1992) 921-930.