

## The Effect of Intrahippocampal Injection of Ascorbic Acid on Spatial Learning and Memory in Adult Male Rats

Khadije esmaeilpour bezenjani, mehdi abbasnejad\*, saeed esmaeili mahani, yaser masoumi ardakani

*Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran*

Received: 21 Sep 2009

Accepted: 28 Dec 2009

### Abstract

**Introduction:** Ascorbic acid (AA) is present in high concentrations with heterogeneous distribution in the mammalian brain. Previous studies have shown that release of various neurotransmitters such as glutamate, acetylcholine and dopamine might be involved in the central AA release. On the other hand all of these neurotransmitters and the region CA1 of the hippocampus are involved in learning and memory. The aim of the present study was to evaluate the effects of ascorbic acid injection in the CA1 region on spatial learning and memory in adult male rats.

**Methods:** 42 adult male NMRI rats (250-300 g) divided into 6 groups were used in this study. They included control group that received no injection, sham-operated group that received normal saline injection as vehicle and four groups that received different doses of ascorbic acid (6, 12, 24 and 48  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ). All injections were given in 5 consecutive days and 30 min after each injection, the rats were tested in the Morris Water Maze test to measure learning and memory task. Spatial learning and memory parameters were subjected to analysis of variance (ANOVA).

**Results:** The results indicated that intrahippocampal microinjection of AA (12 and 24  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) significantly increased some spatial learning and memory parameters such as escape latency and path length to reach the hidden platform.

**Conclusion:** Our findings show that AA injection into the CA1 region has a negative effect on spatial learning and memory.

**Key words:** CA1, Ascorbic acid, Spatial learning and memory, Morris Water Maze.

\*Corresponding author e-mail: mabbas@mail.uk.ac.ir

Available online @:www.phypha.ir/ppj

## اثر تزریق داخل CA1 هیپوکامپی اسید آسکوربیک بر یادگیری و حافظه فضایی در موش های صحرایی نر بالغ

خدیجه اسماعیل پور بزنجانی، مهدی عباس نژاد\*، سعید اسماعیلی ماهانی، یاسر معصومی اردکانی  
گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

پذیرش: ۷ دی ۸۸

دریافت: ۳۰ شهریور ۸۸

### چکیده

**مقدمه:** اسید آسکوربیک در غلظتهای بالا و با انتشار پراکنده در مغز پستانداران وجود دارد. مطالعات قبلی نشان داده است که نوروترانسمیترهای مختلفی مانند گلوتامات، استیل کولین و دوپامین با رهاسازی اسید آسکوربیک در سیستم عصبی مرکزی متاثر از یکدیگر می باشند. از آنجا که همه این میانجی های عصبی به نوعی در یادگیری و حافظه نقش دارند و یکی از جاهایی که در سیستم عصبی مرکزی رهاسازی اسید آسکوربیک صورت می گیرد هیپوکمپ است لذا: هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثر تزریق داخل هیپوکامپی اسید آسکوربیک بر یادگیری و حافظه فضایی موش های صحرایی نر می باشد.

**روش ها:** در این تحقیق ۴۲ سر موش صحرایی نر از نژاد NMRI در محدوده وزنی ۳۰-۲۵۰ گرم در ۶ گروه استفاده شد که شامل: گروه کنترل که تزریقی را دریافت نکردند، گروه شاهد که نرمال سالین ۹/۹ درصد را به عنوان حلال دریافت کردند و چهار گروه دیگر دوزهای متفاوت (۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) اسید آسکوربیک را دریافت کردند. تزریق به مدت ۵ روز متوالی صورت گرفت، ۳۰ دقیقه بعد از هر تزریقی ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی با ماز آبی مورس صورت گرفت و شاخص های یادگیری و حافظه فضایی به روش آنالیز واریانس (ANOVA) بررسی شد.

**یافته ها:** این نتایج نشان داد که تزریق داخل هیپوکامپی اسید آسکوربیک (۱۲ و ۲۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) بعضی از شاخص های یادگیری و حافظه فضایی مانند مسافت طی شده و زمان سپری شده تا رسیدن به سکوی پنهان را به صورت معنی داری افزایش داد.

**نتیجه گیری:** یافته های ما نشان می دهد که اسید آسکوربیک در ناحیه CA1 روی یادگیری و حافظه فضایی اثر کاهشی دارد.

**واژه های کلیدی:** CA1، اسید آسکوربیک، یادگیری و حافظه فضایی، ماز آبی مورس

### مقدمه

پردازش اطلاعات فضایی دارد [۲۱]. اسید آسکوربیک از طریق ناقل ویتامین C وابسته به سدیم (SVCT2) به مغز و نورون ها انتقال می یابد [۱۰]. غلظت اسید آسکوربیک بیشتر از  $\mu\text{g}/\text{g}$  ۲۵۰ بافت تر در تعداد زیادی از ساختارهای مغز قدیمی مانند هیپوکمپ، هسته اکومبسنس، جسم مخطط، هیپوتالاموس و سیتوم می باشد. در سال های اخیر اسید آسکوربیک نه تنها به عنوان آنتی اکسیدان بلکه همچنین به عنوان یک نورومدولاتور در سیستم عصبی مرکزی معرفی شده است [۲۴].

نواحی مختلف مغزی در یادگیری و حافظه دخالت دارند. یکی از نواحی مغزی مورد توجه در ارتباط با عملکرد حافظه و یادگیری هیپوکمپ است. این ساختار مغزی نقش اساسی در

mabbas@mail.uk.ac.ir  
www.phypha.ir/pp

\* نویسنده مسئول مکاتبات:  
وبگاه مجله:

وسیله مدل ماز آبی موريس مورد ارزیابی قرار گرفت نتایج نشان داد که تزریق داخل بطنی اسیدآسکوربیک با دوز (۶mg/rat) مقدار اندکی از پارامترهای یادگیری و حافظه را متاثر کرد و دوز (۱۲mg/rat) تاثیر کمی بیشتر و در دوز (۲۵mg/rat) موجب کاهش پارامترهای یادگیری و حافظه فضایی به صورت معنی دار گردید و در ادامه در دوز (۳۷ mg/rat) مقدار بسیار کمتری از پارامترها تحت تاثیر قرار گرفتند [۱]. تجویز طولانی مدت دهانی اسید آسکوربیک به موش های مسن حافظه را تا حدودی بهبود بخشید و همچنین تزریق کوتاه مدت درون صفاقی اسیدآسکوربیک یادگیری احترازی غیر فعال را نسبت به گروه کنترل بهبود داد [۲۱]. در گزارش دیگری آمده است که تزریق داخل صفاقی آسکوربات (۱۲۵mg/kg) اختلالات یادگیری ایجاد شده به وسیله Scopolamine در عملکرد ماز آبی موريس در موش های جوان را کاهش داد [۹].

از آنجا که مطالعات قبلی عمدتاً موکد اثر منفی اسیدآسکوربیک بر پارامترهای یادگیری و حافظه در تزریق های داخل صفاقی و ICV است و چون در یادگیری و حافظه نقش CA1 بیشتر از سایر نواحی مطرح است و نیز یکی از نواحی مغزی که اسیدآسکوربیک رها می شود CA1 است لذا در این مطالعه که در راستای مطالعات قبلی است اثر تزریق اسیدآسکوربیک در ناحیه CA1 هیپوکمپ بر حافظه و یادگیری فضایی در موش های صحرایی نر بالغ مورد بررسی قرار گرفته شد.

## مواد و روش ها

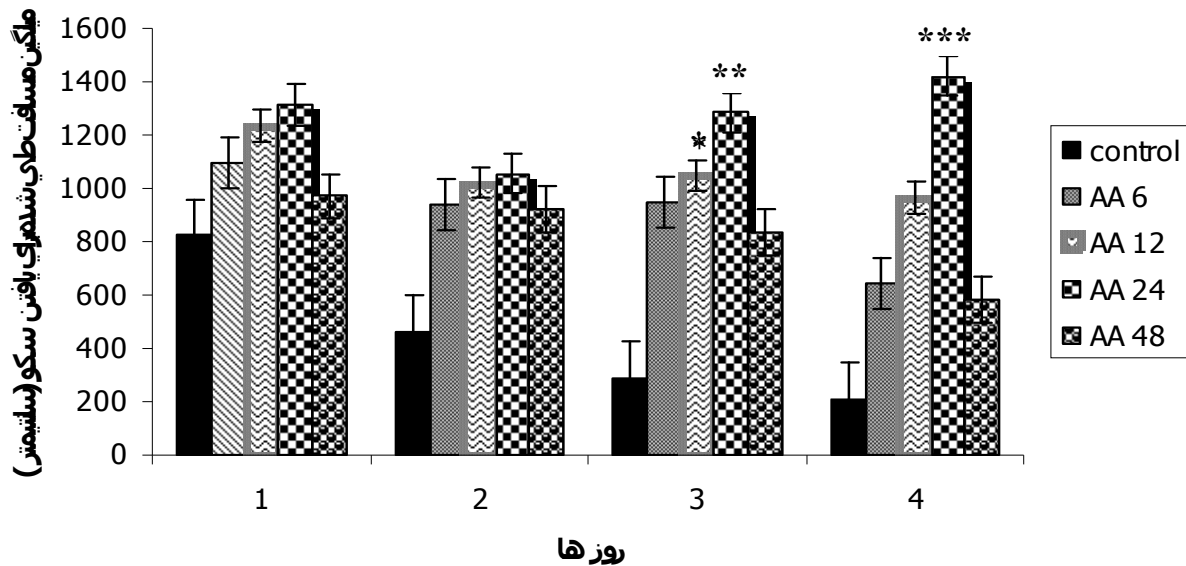
در این آزمایش تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد NMRI در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم در شروع آزمایش، مورد بررسی قرار گرفتند. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای  $24 \pm 1$  درجه سانتی گراد نگهداری می شدند. در همه گروه ها غذا و آب به حد کافی در دسترس بود. یک هفته قبل از آغاز آزمایش های رفتاری، حیوانات تحت بیهوشی با مخلوط کتامین (۷۵ mg/kg/ip) و گزیزلازین (۵mg/kg) بیهوش و در دستگاه استرئوتکس قرار گرفتند.

ناحیه CA1 به صورت دو طرفه کانول گذاری (سر سوزن شماره ۲۱) شد. عمل استریوتاکسی بر طبق اطلس پاکسینوس با

اسید آسکوربیک می تواند اتصال آگونیست های گیرنده دوپامینی (گیرنده D1 و گیرنده D2) را کاهش دهد و نیز سبب کاهش تولید آدنوزین مونوفسفات حلقوی (CAMP) در سلول های دارای گیرنده دوپامینی شود. می توان گفت که این دارو با مهار سیستم دوپامینی همراه است [۲۳]. اسید آسکوربیک از انتهای نورون های گلوتامینرژیک در مغز آزاد شده و فعالیت دو سیستم گلوتامینرژیک و دوپامینرژیک را تا حدود زیادی تنظیم می کند، از طرفی این نوروترانسمیترها میزان آزاد شدن اسید آسکوربیک را تنظیم می کنند، این ویتامین با غلظت کم، آگونیست سیستم دوپامینرژیک و گلوتامینرژیک است و با غلظت زیاد اثر آنتاگونیستی بر نوروترانسمیترهای مذکور دارد. از آن جا که این دو واسطه عصبی در انواع مختلف یادگیری و حافظه می باشند، بنابر این اسید آسکوربیک از طریق آنها بر یادگیری و حافظه اثر می گذارد، به طوری که مقادیر کم و متوسط اسید آسکوربیک یادگیری فضایی را بهبود می بخشد ولی دوز بالای آن یادگیری را مختل می کند [۵].

اسید آسکوربیک اثر آنتی دوپامینی haloperidol را در موش ها افزایش داده و به طور مستقیم نواحی اتصال دوپامینی جسم مخطط را تغییر داده و اتصال آنتاگونیست های دوپامین را به رسپتور های دوپامین مهار می کند [۲۴]. پس از آسیب هیپوکمپ به وسیله کاینیک اسید، رهائش اسید آسکوربیک در هسته آکومبیس از بین می رود، این نشان دهنده ضرورت وجود هیپوکامپ در رهائش اسیدآسکوربیک از هسته اکومبیس می باشد [۶]. همچنین اسیدآسکوربیک بر میزان پتانسیل های برانگیخته در ناحیه هیپوکمپ مغز تاثیرگذار است [۱۱]. آسکوربات (۱gr/kg i.p.) به طور معنی داری سطح یادگیری اجتنابی را در جعبه شاتل کاهش می دهد [۲]. در مطالعه دیگری نشان داده شد که، دوزهای ۵۰۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسیدآسکوربیک به صورت داخل صفاقی یادگیری فضایی را به صورت وابسته به دوز تقویت کرد ولی تزریق ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی باعث کاهش شدید میزان یادگیری فضایی شد. تزریق ۴ و ۸ میلی گرم اسیدآسکوربیک به درون هسته تکمنتوم شکمی (VTA) نیز به ترتیب باعث افزایش و کاهش میزان یادگیری شد [۵].

در تحقیقی که اثر تزریق درون بطنی اسیدآسکوربیک بر فرایند های یادگیری و حافظه فضایی در موش های صحرایی به



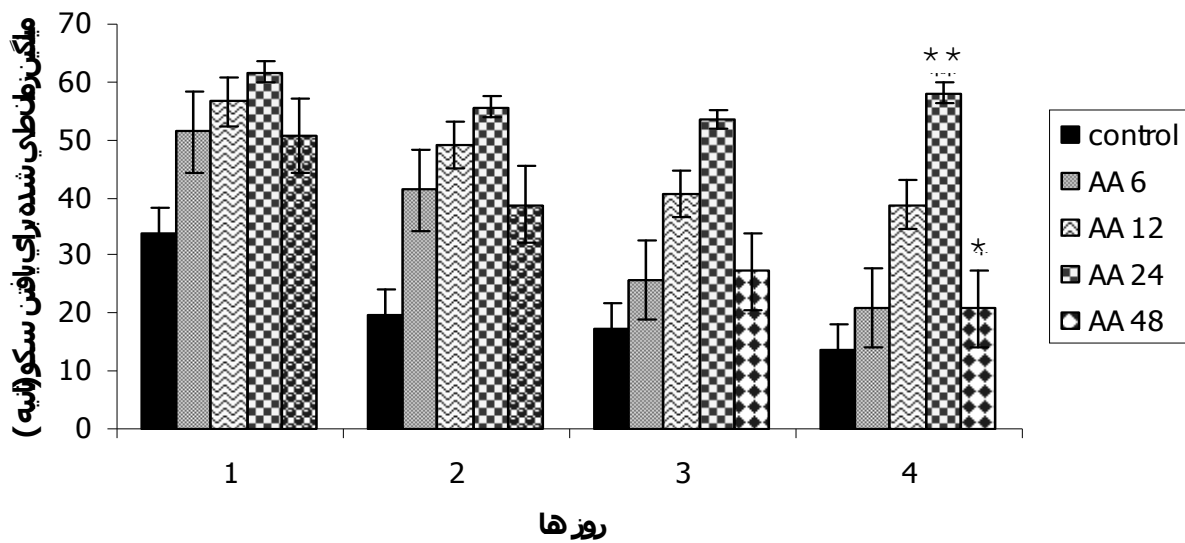
شکل ۱- میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو در گروه های دریافت کننده اسید اسکوربیک با دوزهای (۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) و گروه کنترل دوز (۱۲  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) و گروه کنترل دارای اختلاف معنی دار در روز سوم می باشند ( $P < 0.05$ ). همچنین بین دوز (۲۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) و کنترل اختلاف معنی دار در روز سوم ( $P < 0.01$ ) و روز چهارم ( $P < 0.001$ ) مشاهده می شود. n=7, AA=ascorbic acid.

انجام شد و در روز آخر، مرحله probe trial بمنظور مطالعه شاخصه های حافظه فضایی انجام گردید. در هر کار آزمایی، نمایش حرکت موش به وسیله یک دوربین که در بالای حوضچه نصب شده فیلم برداری شده و توسط نرم افزار ردیاب ابتدا پردازش شده و سپس اطلاعاتی نظیر میانگین سرعت شنا کردن، میانگین زمان کل سپری شده برای یافتن سکو، میانگین مسافت کل طی شده برای یافتن سکو و میانگین درصد زمان و مسافت طی شده در ربع هدف (ربعی که سکو در آن قرار داشته) استخراج می شود. در روز پنجم اطلاعات لازم نظیر مسافت و زمان طی شده در ربعی که قبلا سکو در آن قرار داشته و نیز سرعت شنا کردن استخراج شده و مورد تجزیه و تحلیل قرار می گیرند [۱۳].

بعد از اتمام آزمایش ها، سر حیوانات جدا شده و از مغز موشها پس از خروج از جمجمه و فیکس کردن در محلول فرمالین ۱۰٪، برش هایی در حد ۲۰۰ میکرولیتر به وسیله دستگاه ویبروسلایس تهیه شد. به منظور رنگ آمیزی مقاطع از رنگ آمیزی نیسل استفاده شد تا موقعیت کانول در ناحیه CA1 تایید شود. داده های استخراج شده از هر حیوان تنها در صورتی جهت تجزیه و تحلیل آماری پذیرفته می شد که محل تزریق در هر دو طرف در ناحیه CA1 قرار داشت. نتایج چهار روز اول آزمایش با آنالیز واریانس دو طرفه و نتایج روز پنجم با آنالیز

مختصات (DV=3/2 ، ML=2/2 ، AP=-3/8) از سطح جمجمه انجام گردید [۱۳]. برای در پوش کانال ها از سرسوزن شماره ۲۵ و برای تزریق از سر سوزن شماره ۲۷ استفاده گردید. میله دهانی ۳/۳ میلی متر زیر صفر قرار داشت تا مطابق اطلس وضعیت صاف جمجمه حاصل گردد. کانول ها توسط سیمان دندانپزشکی و پیچ های کوچک عینک بر روی جمجمه ثابت می شدند. موش های صحرایی به ۶ گروه هفت تایی شامل: کنترل (بدون جراحی)، شاهد (دریافت کننده حلال اسکوربیک اسید) و گروه های دریافت کننده دوزهای (۴۸  $\mu\text{g}/\text{rat}$  و ۶، ۱۲، ۲۴) اسید اسکوربیک تقسیم شدند. تزریق داروها به کمک سرنگ همبلیتون ۱ میکرولیتری و با تکنیک پیش راندن حباب با استفاده از لوله پلی اتیلن شماره ۱۰ و طول ۲۰ سانتیمتر انجام شد. حجم تزریق ۱ میکرولیتر و مدت تزریق یک دقیقه و به مدت پنج روز متوالی بین ساعات ۹ تا ۱۱ صبح صورت می گرفت، ۳۰ دقیقه بعد از تزریق حیوان در ماز آبی موریس قرار می گرفت.

حیوانات کلیه گروه ها به مدت پنج روز جهت بررسی روند یادگیری و حافظه فضایی در ماز آبی موریس مورد مطالعه قرار گرفتند [۱۳]. به طور خلاصه در این روش دو مرحله آزمایشات اصلی انجام شد. بدین ترتیب که در چهار روز اول مرحله آموزش حیوانات به منظور بررسی شاخصه های یادگیری فضایی



شکل ۲- میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در گروه های دریافت کننده اسیدآسکوربیک با دوزهای (۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ μg/rat) و گروه کنترل. دوز (۲۴ μg/rat) و کنترل دارای اختلاف معنی دار در روز چهارم می باشند (P < ۰/۰۰۱). همچنین بین دوز (۲۴ و ۴۸ μg/rat) اختلاف معنی دار (P < ۰/۰۵) می باشد. AA=ascorbic acid, n=۷.

میانگین مسافت طی شده در میانگین چهار روز آزمایش نشان می دهد که در دوز های (۱۲ μg/rat) (P < ۰/۰۵) و (۲۴ μg/rat) (P < ۰/۰۱) اسیدآسکوربیک نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی دار مشاهده می شود (شکل ۳). اسیدآسکوربیک با دوزهای (۱۲ μg/rat) و (۲۴ μg/rat) تفاوت معنی داری را بترتیب (P < ۰/۰۵) و (P < ۰/۰۱) با گروه کنترل در میانگین زمان طی شده برای یافتن سکو در میانگین چهار روز دارد (شکل ۴).

میانگین درصد مسافت طی شده در ربع هدف در میانگین چهار روز نشان می دهد که اسیدآسکوربیک با غلظت (۱۲ μg/rat) (P < ۰/۰۵) و (۲۴ μg/rat) (P < ۰/۰۱) نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری ایجاد کرده است (شکل ۵) و میانگین درصد زمان در ربع هدف در میانگین چهار روز نشان می دهد که اسیدآسکوربیک با دوزهای (۱۲ μg/rat) (P < ۰/۰۵) و (۲۴ μg/rat) (P < ۰/۰۵) نسبت به گروه کنترل از میزان زمان حرکت در ربع هدف کاسته است (شکل ۶).

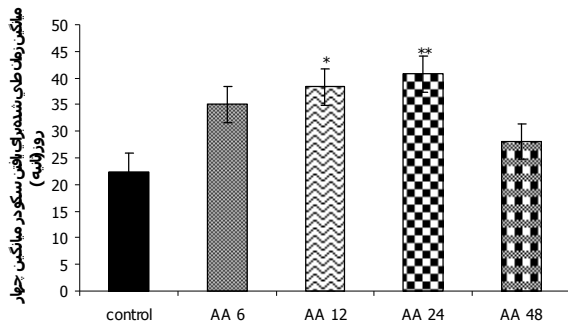
داده های روز پنجم نشان می دهد که: درصد مسافت طی شده در ربع هدف در روز پنجم تفاوت معنی دار (P < ۰/۰۱) بین اسیدآسکوربیک (۲۴ μg/rat) و گروه کنترل دیده می شود (شکل ۷). و بالاخره اسیدآسکوربیک با غلظت (۱۲ μg/rat) (P < ۰/۰۵) و با غلظت (۲۴ μg/rat) (P < ۰/۰۱) نسبت به گروه کنترل

واریانس یک طرفه مورد بررسی قرار گرفت و در مواردی که اختلاف معنی دار بود از آزمون Tukey بعنوان Post hoc استفاده شد. همچنین P < ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد [۱۳].

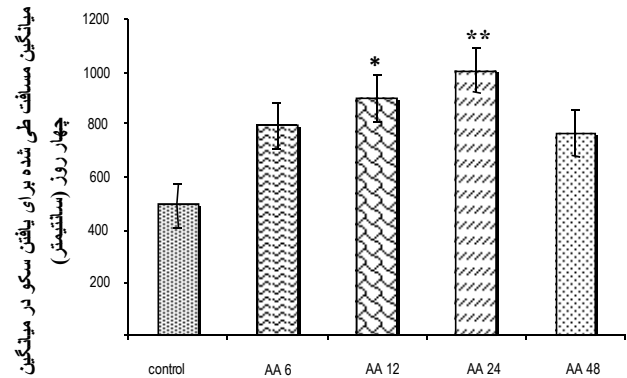
## یافته ها

مقایسه میان گروه کنترل و گروه شاهد نشان داد که بین این دو گروه اختلاف معنی داری وجود ندارد. نتایج حاصل از آنالیز واریانس دو طرفه در چهار روز اول که مربوط به یادگیری فضایی می باشد نشان می دهد که: تزریق اسیدآسکوربیک در چهار دوز (۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ μg/rat) باعث افزایش در میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو شده است، دوز (۱۲ μg/rat) و (۲۴ μg/rat) اسیدآسکوربیک به صورت معنی داری بترتیب (P < ۰/۰۵) و (P < ۰/۰۱) با گروه کنترل در روز سوم باعث اختلاف شدند و دوز (۲۴ μg/rat) اسیدآسکوربیک اختلاف معنی دار (P < ۰/۰۰۱) را با گروه کنترل در روز چهارم داشته است (شکل ۱).

بررسی میانگین زمان طی شده برای یافتن سکو نشان داد که اسیدآسکوربیک با دوز (۲۴ μg/rat) اختلاف معنی دار (P < ۰/۰۱) با گروه کنترل در روز چهارم دارد (شکل ۲).



**شکل ۴-** میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در میانگین چهار روز آموزش در گروه های دریافت کننده اسید اسکوربیک با دوزهای (۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) و گروه کنترل. اختلاف معنی دار بین گروه کنترل و اسید اسکوربیک (۱۲  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) ( $P < 0.05$ ) و اسید اسکوربیک (۲۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) ( $P < 0.01$ ) نشان داده شده است.  $n=7$ , AA=ascorbic acid



**شکل ۳-** میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو در میانگین چهار روز آموزش در گروه های دریافت کننده اسید اسکوربیک با دوزهای (۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) و گروه کنترل. اختلاف معنی دار بین گروه کنترل و اسید اسکوربیک (۱۲  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) ( $P < 0.05$ ) و اسید اسکوربیک (۲۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) ( $P < 0.01$ ) نشان داده شده است.  $n=7$ , AA=ascorbic acid

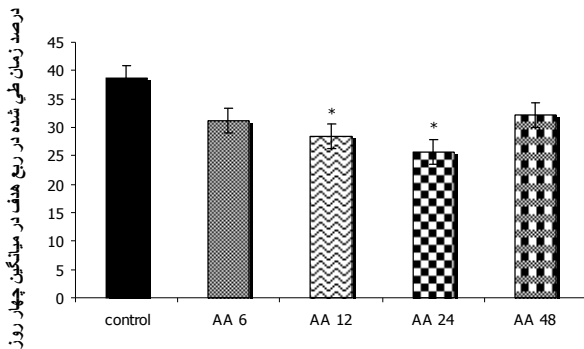
است. این نتایج نشان داد که تزریق داخل هیپوکامپی اسید اسکوربیک (۱۲ و ۲۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) بعضی از شاخص های یادگیری و حافظه فضایی مانند مسافت طی شده و زمان سپری شده تا رسیدن به سکو پنهان را به صورت معنی داری تغییر داد.

با توجه به این داده ها نتایج پژوهش حاضر نشان می دهد که اثر تزریق داخل هیپوکامپی اسید اسکوربیک همانند اثر تزریق مرکزی [۱۵] و برخی اثرات داخل صفاقی آن [۲۵] باعث کاهش در یادگیری و حافظه گردیده است و این اثر به صورت وابسته به دوز بر یادگیری اعمال می گردد. احتمالاً یکی از عللی که اسید اسکوربیک باعث کاهش یادگیری و حافظه گردیده تداخل این ماده با سیستم دوپامینرژیک CA1 می باشد. با توجه به اینکه اسید اسکوربیک می تواند اتصال آگونیست های گیرنده دوپامین (گیرنده D1 و گیرنده D2) را کاهش دهد و نیز سبب کاهش تولید آدنوزین مونو فسفات حلقوی (CAMP) در سلول های دارای گیرنده دوپامینی شود، می توان گفت که این دارو با مهار سیستم دوپامینی همراه است [۲۳]. گیرنده های دوپامینی نقش مهمی را در تنظیم فعالیت های نورونی وابسته به یادگیری و حافظه ایفا می کنند و در بهبود یادگیری و حافظه نقش مهمی دارند [۲۰]. علاوه بر این مطالعات متعددی حضور گیرنده های دوپامینی D1 و D2 را در هیپوکامپ گونه های متعددی از پستانداران ثابت کرده است [۱۵] از طرفی هیپوکامپ موش بزرگ آزمایشگاهی تنها منطقه ای از مغز است که هر پنج نوع mRNA انواع گیرنده های دوپامینی را بیان می کند [۱۴] و نورون های دوپامینرژیک از طریق اثر بر گیرنده های D1 و

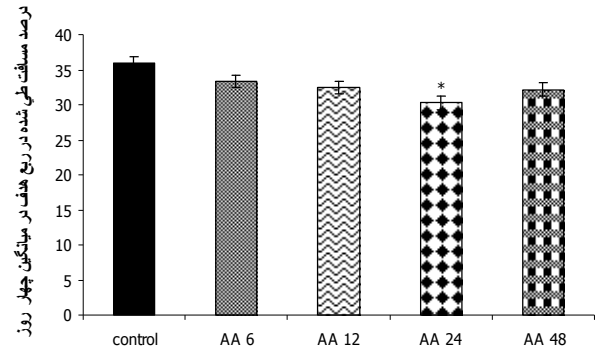
درصد زمان را در ربع هدف در روز پنجم کاهش داده است (شکل ۸).

## بحث

در این مطالعه اثر تزریق اسید اسکوربیک در ناحیه CA1 هیپوکامپ موش صحرایی نر بالغ بر یادگیری و حافظه فضایی به وسیله ماز آبی موریس مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که تزریق داخل هیپوکامپی اسید اسکوربیک با دوز (۶  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) موجب کاهش در یادگیری و حافظه فضایی شد اما این کاهش معنی دار نبود، بنابراین دوز (۶  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) اسید اسکوربیک روی یادگیری و حافظه فضایی اثری ندارد. تزریق اسید اسکوربیک با دوز (۱۲  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) توانست باعث کاهش معنی دار در مسافت طی شده و زمان سپری شده تا رسیدن به سکو پنهان شود در نتیجه اسید اسکوربیک باعث کاهش یادگیری و حافظه فضایی به صورت معنی دار گردید. دوز (۲۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) اسید اسکوربیک پارامتر های یادگیری و حافظه فضایی یعنی مسافت طی شده و زمان سپری شده تا رسیدن به سکو پنهان را با سطح معنی داری بیشتری تحت تاثیر قرار داد. دوز (۲۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) اسید اسکوربیک باعث کاهش بیشتری در یادگیری و حافظه فضایی شد. در ادامه دوز (۴۸  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) اسید اسکوربیک باعث کاهش یادگیری و حافظه فضایی شد اما از آنجا که این کاهش معنی دار نبود در نتیجه دوز (۴۸  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) اسید اسکوربیک روی یادگیری و حافظه بی تاثیر



شکل ۶- میانگین درصد زمان طی شده در ربع هدف در میانگین چهار روز آموزش در گروه های دریافت کننده اسیدآسکوربیک با دوزهای (۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ μg/rat) و گروه کنترل. دوز (۱۲ μg/rat) و همچنین دوز (۲۴ μg/rat) دارای اختلاف معنی دار به ترتیب (\*P<۰/۵) و (\*P<۰/۵) با گروه کنترل می باشد. AA=ascorbic acid. n=۷.



شکل ۵- میانگین درصد مسافت طی شده در ربع هدف در میانگین چهار روز آموزش در گروه های دریافت کننده اسیدآسکوربیک با دوزهای (۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ μg/rat) و گروه کنترل. دوز (۲۴ μg/rat) دارای اختلاف معنی دار (\*P<۰/۵) با گروه کنترل می باشد. AA=ascorbic acid. n=۷.

NMDA و مجموعه رفتار های ناشی از آن نیز اثر مهارى دارد در نتیجه توانایی تعدیل انتقال گلوتامینرژیک و مجموعه رفتار های ناشی از آن را نیز دارد [۱۹، ۷، ۴]. در مجموع به نظر می رسد که لاقط قسمتی از اثر اسیدآسکوربیک بر روند حافظه و یادگیری از طریق مکانیسم های گلوتامینرژیک واسطه گری شود.

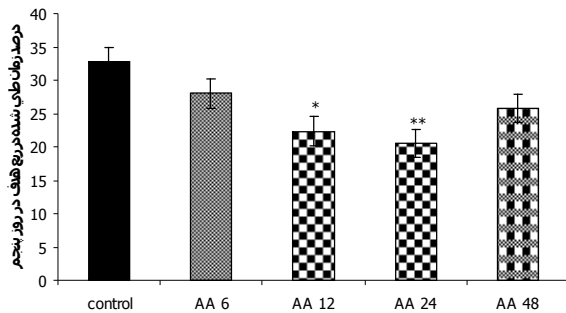
بررسی ها نشان داده که آسکورات با پیتید های اپیوئیدی تداخل عمل دارد [۳]، آگونیست های اپیوئیدی باعث مهار فعالیت کولینرژیک در هیپوکمپ شده و باعث کاهش رهایی استیل کولین در بسیاری از نواحی مغزی می گردند [۱]. از سوی دیگر رهایش استیل کولین در هیپوکمپ، جسم مخطط و آمیگدال وجود دارد و از این طریق پردازش انواع مختلفی از حافظه و یادگیری را تعدیل می کند [۸] بنابراین اسید آسکوربیک می تواند از طریق مداخله با سیستم کولینرژیک موجب کاهش یادگیری و حافظه فضایی شود.

با توجه به اینکه اسیدآسکوربیک دارای فعالیت آنتی اکسیدانی می باشد [۲۱] و نشان داده شده که عملکرد بهبود یادگیری و حافظه این ترکیب به علت ویژگی آنتی اکسیدانی آن می باشد [۱۷]. بنابراین نتایج این مطالعه با اثر تقویتی ترکیبات آنتی اکسیدان روی حافظه و یادگیری تناقض دارد. از آنجا که اسیدآسکوربیک به عنوان یک نورومودلاتور در سیستم عصبی مرکزی معرفی شده است [۲۴] و اثر مداخله در عملکرد سایر نوروترانسمیتر ها یک اثر اختصاصی و اثر آنتی اکسیدانی یک اثر عام می باشد بنابر این اثر مداخله اسیدآسکوربیک در عملکرد نوروترانسمیترها از جمله دوپامین، گلوتامات و سروتونین [۷] از

D5 دوپامینی سلول های پیراییدال ناحیه CA1 هیپوکمپ در ایجاد حافظه طولانی مدت این ناحیه مؤثر می باشند [۱۲]. بنابراین می توان بیان کرد که اسید آسکوربیک با تأثیر بر روی گیرنده های دوپامینی در هیپوکمپ موجب کاهش یادگیری و حافظه شده است.

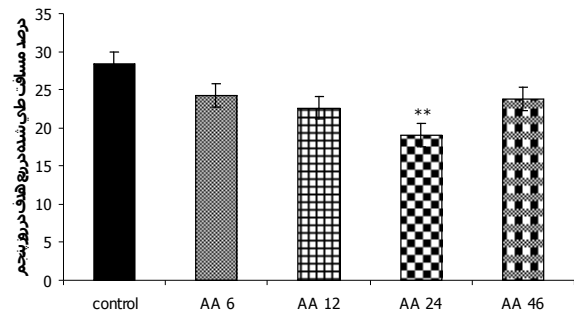
ناحیه CA1 دارای تراکم فراوانی از گیرنده های سروتونرژیک نسبت به قسمت های دیگر هیپوکمپ است و سیستم سروتونرژیک نقش مهمی را در روند یادگیری و حافظه ایفا می کند [۱۳]. از سوی دیگر سروتونین نیز موجب رهایش مرکزی اسیدآسکوربیک می شود [۷] و می تواند از طریق مهار عمل گیرنده ی NMDA در نورون پس سیناپسی باعث مهار تقویت طولانی مدت در ناحیه هیپوکمپ گردد [۱۶]. این پدیده می تواند یکی از علل کاهش یادگیری و حافظه توسط اسیدآسکوربیک باشد. همچنین گزارش شده است که اسیدآسکوربیک رسپتورهای NMDA را بلوک می کند [۲۲]. آن جا که بیشترین تراکم این گیرنده ها در ناحیه CA1 و شکنج دندانان ای هیپوکمپ می باشد و این گیرنده ها در فرایند ایجاد حافظه مؤثرند [۱۸] می توان گفت که اسیدآسکوربیک از طریق مهار این گیرنده ها باعث کاهش حافظه می شود.

مکانیسم احتمالی دیگر در خصوص ایجاد اثر مهارى اسیدآسکوربیک بر پارامترهای حافظه و یادگیری این است که اسیدآسکوربیک کانال های کلسیمی نوع L را نیز بلوک می کند [۲۲] و گزارش شده که بلوک فارماکولوژیکی کانال کلسیم نوع L باعث تخریب یادگیری می شود [۱۸]. بعضی شواهد نشان می دهد که آسکورات بر گیرنده



**شکل ۸-** درصد زمان طی شده در روز پنجم در ربع هدف در گروه های دریافت کننده اسید اسکوربیک با دوزهای (۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) و گروه کنترل. اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل و اسید اسکوربیک (۱۲  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) ( $P < 0.05$ ) و گروه کنترل و اسید اسکوربیک (۲۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) ( $P < 0.01$ ) نشان داده شده است.

نشان داد و نیز مشخص کرد که بخشی از این اثر مهاری از طریق اثر آن بر CA1 اعمال می گردد و نیز نشان داد که اسید اسکوربیک فقط به عنوان یک عامل ضد استرس اکسیداتیو محسوب نمی شود بلکه اگر صرفاً این موضوع وجود داشت با افزایش غلظت بایستی وضعیت حافظه و یادگیری بهتر می شد در حالی که در دوزهای بالا وضعیت بدتر است، بنابراین باید بیشتر به عنوان یک تنظیم کننده اثر سایر نوروترانسمیترها به آن نگاه کرد. اینکه کدام یک از نوروترانسمیترهای بحث شده در فوق سهم بیشتری از این اثرات دارند، موضوعی است که باید در آینده به آن پرداخت.



**شکل ۷-** درصد مسافت طی شده در روز پنجم در ربع هدف در گروه های دریافت کننده اسید اسکوربیک با دوزهای (۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) و گروه کنترل. اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل و اسید اسکوربیک (۲۴  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) نشان داده شده است.  $n=7$ , AA=ascorbic acid. ( $P < 0.01$ )

تأثیر آنتی اکسیدانی آن بر یادگیری اثر بیشتری دارد. می توان بیان کرد که اسید اسکوربیک باعث کاهش یادگیری و حافظه فضایی می شود. اسید اسکوربیک می تواند از طریق مداخله در سیستم های گلوتامینرژیک، دوپامینرژیک، کولینرژیک و سروتونرژیک [۷] و با مهار کانال های NMDA و کلسیمی اثر مخربی روی یادگیری و حافظه فضایی داشته باشد. تجربیات قبلی در خصوص اسید اسکوربیک نشان داده بودند که تزریق این ماده به صورت داخل صفاقی [۵ و ۲] یا مرکزی در نواحی داخل بطنی [۱] و هسته تگمنتوم شکمی [۵] منجر به بدتر شدن یادگیری و حافظه می شود. در صورتیکه نتایج تحقیق حاضر بار دیگر اثر مهاری این ترکیب را بر یادگیری و حافظه

## References

- [1] Abbasnejad M, Nasri S, Nazem H, Bahaadini M, The effect of ascorbic acid injection into the lateral ventricle on spatial learning and memory in adult male rats. *Pharmacology* 12 (2008) 227-237.
- [2] Desole MS, Anania V, Esposito G, Carboni F, Senini A, Miele E, neurochemical and behavioural change induced by ascorbic acid and d- amphetamine in the rat. *Pharmacology Res* 19 (1987) 441-450.
- [3] Dunlap CE, Lesile FM, Effect of ascorbate on the toxicity of morphine in mice. *Neuropharmacology* 24 (1985) 797-804.
- [4] Enrico P, Mura MA, Esposito G, Serra P, Migheli R, De Natale G, Desole MS, Miele M, Miele E. Effect of naloxone on morphine-induced change in striatal dopamine metabolism and glutamate, ascorbic acid and uric acid release in freely moving rats. *Brain Res* 797 (1998) 94-102.
- [5] Esmaili MH, Doodangh E, Sharifi M, The effect of ascorbic acid on spatial learning. *The Journal Of Qasvin Univ. of Med. Sci* 24 (2003) 3-8.
- [6] Fany Dai, ya yan., Pei Fei Gu, Yue Hou, Chun Fuwn. Effect of drug-induced ascorbic acid release in the straitum and the nucleus accumbans in hippocampus-lesioned rats. *Shenyang* 4 (2006) 79-84.
- [7] Gardiner TW, Armstrong-James M, Caan AW, Wightman RM., Rebec GV. Modulation of neostriatal activity by iontophoresis of ascorbic acid. *Brain Res* 30 (1985) 181-185.
- [8] Gold PE, Acetylcholine modulation of neural systems



- involved in learning and memory. *Neurobiol Learn Mem* 80 (2003) 194-210.
- [9] Harrison FE, Hosseini AH, Dawes SM, Weaver S, May JM, Ascorbic acid attenuates scopolamine-induced spatial learning deficits in the water maze. *Behavioural Brain Res* 28 (2009)550-558.
- [10] Harrison FE, May JM, Vitamin C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter SVCT2. *Free Radical Biol Med* 15 (2009)719-730.
- [11] Laguzzi RF, Acevedo C, Izquierdo JA, The effect of ascorbic acid on Evoked potentials in the dorsal hippocampus by stimulation of the fornix, *Arzneimittel forschung* 20 (1970) 1270–1271.
- [12] Lemon N, Manahan-Vaughan D, Dopamine D1/D5 receptors gate the acquisition of novel information through hippocampal long-term potentiation and long term depression. *Neurosci* 26 (2006) 7723-7729.
- [13] Majlessi N, Kadkhodae M, Parvis M, Naghdi N, serotonin depletion in rat hippocampus attenuates L-NAME-induced spatial learning deficits. *Brain Res* 963 (2003) 244-251.
- [14] Meador-Woodruff, JH, Update on dopamine receptors. *Ann Clin Psychiatry* 6 (1994) 79-90.
- [15] Meador-Woodruff, JH, Neuroanatomy of dopamine receptor gene expression: potential substrates neuropsychiatric illness. *Clin Neuropharmacol* 18 (1995) 14-24.
- [16] Moyano S, Del Rio J, Frechilla D, Role of hippocampal CAMKII in serotonin 5-HT<sub>1A</sub> (1A) receptor-mediated learning deficits in rats. *Neuropsychopharmacology* 29 (2004)2216-24.
- [17] Parle M, Dhingra D. Ascorbic Acid: a Promising Memory-enhancer in mice. *Pharmacology Sci* 93 (2003)129-35.
- [18] Pourmotabbed A, Nedaei SE, Mehrabinasab E, Assessment of the role of NMDA receptors located in hippocampal CA1 area on the effects of oral morphine dependency on spatial learning and memory in rat. *Pharmacology* 10 (2006) 115-123.
- [19] 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.
- [20] Rezayof A, Motevasseli T, Rassouli Y, Zarrindast MR, Dorsal hippocampal dopamine receptors are involved in mediating ethanol state-dependent memory. *Life Sciences* 80 (2007) 285–292.
- [21] Shahidi S, Komaki A, Mahmood M, Atravash N, Ghodrati M, Ascorbic acid supplementation could affect passive avoidance learning and memory in rat. *Brain Res* 76 (2008) 109–113.
- [22] Stamford JA, Isaac D, Hicks CA, Ward MA, Osborne DJ, O'Neill MJ. Ascorbic acid is neuroprotective against global ischaemia in striatum but not hippocampus: histological and voltammetric data. *Brain Res* 24(1999)229-40.
- [23] Tolbert LC, Morris PEJ, Spollen JJ, Ashe SC, Stereospecific effects of ascorbic acid and analogues on D1 and D2 agonist binding. *Life Sci* 51(1992) 921- 930.
- [24] Wen L, Chun F, Mei H, Kun X, Opposite effects of sulpiride and SCH 23390 on ethanol-induced striatal ascorbic acid release in intact and 6-hydroxydopamine lesioned rats. *Brain Res* 869 (2000) 31–38.