

اثر حفاظتی اسید آسکوربیک بر اختلال یادگیری و حافظه در موش بزرگ صرعی شده توسط اسید کاینیک

نویسندگان: زهرا کیاسالاری^{۱*}، محسن خلیلی^۱، مهرداد روغنی^۱، وحیده علیمزادی^۲

۱. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲. دانش‌آموخته پزشکی دانشگاه شاهد تهران، ایران

E-mail: Kiasalari@shahed.ac.ir

* نویسنده مسئول: زهرا کیاسالاری

چکیده

مقدمه و هدف: تشنج‌های ناشی از صرع، موجب ایجاد مشکل در روندهای یادگیری و حافظه می‌شود؛ با در نظر گرفتن اثر حفاظتی اسید آسکوربیک (ویتامین C)، هدف این تحقیق، بررسی اثر تجویز این ماده بر نقص حافظه و یادگیری در مدل تجربی صرع لب گیجگاهی موش بزرگ صرعی شده توسط اسید کاینیک بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی به چهار گروه کنترل، کنترل مثبت، صرعی و صرعی دریافت‌کننده اسید آسکوربیک تقسیم شدند. برای صرعی کردن حیوانات از اسید کاینیک استفاده شد. اسید آسکوربیک نیز به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل‌صفاقی و از یک هفته پیش از جراحی به حیوان تزریق شد. تأخیرهای اولیه و در حین عبور در آزمون اجتنابی غیرفعال و درصد رفتار تناوب در ماز Y در پایان کار تعیین شدند.

نتایج: پیش‌درمان با اسید آسکوربیک، باعث کاهش معنی‌دار رفتار تشنجی حیوانات در مقایسه با گروه صرعی نشد؛ در خصوص تأخیر اولیه نیز، تفاوت معنادار از نظر آماری میان گروه‌ها مشاهده نشد، تأخیر در حین عبور در گروه صرعی تحت پیش‌درمان با اسید آسکوربیک نیز نسبت به گروه صرعی تفاوت معنی‌دار نشان‌داد و درصد تناوب در گروه صرعی تحت تیمار با اسید آسکوربیک به‌طور معنی‌دار از گروه صرعی بیشتر بود ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: پیش‌تیمار با اسید آسکوربیک در موش صرعی شده هرچند بر توانایی نگهداری اطلاعات و به‌یادآوری آنها در آزمون اجتنابی غیرفعال تأثیر ندارد، ولی موجب بهبود حافظه فضایی می‌شود.

واژگان کلیدی: اسید آسکوربیک، صرع لب گیجگاهی، تشنج، حافظه و یادگیری

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌ویکم-شماره ۱۱۰
اردیبهشت ۱۳۹۳

دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۲۷

آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۳/۰۱/۱۹

پذیرش: ۱۳۹۳/۰۱/۲۱

مقدمه

بیماری صرع، نوعی بیماری عصبی رایج با شیوع ۱ درصد در جامعه به‌شمارمی‌آید و با ظهور مکرر تخلیه‌ها و تشنج‌های خودبه‌خودی به علت افزایش تحریک‌پذیری نورون‌ها در مغز خود را نشان می‌دهد. تشنج‌های صرعی به‌طور کلی به دو نوع موضعی و سرتاسری تقسیم می‌شوند. تظاهرات یالینی فرم موضعی صرع با توجه به منشأ تخلیه‌های اپی‌لپتیک شامل «نشانه‌های حسی، حرکتی، اتونومیک و روانی» می‌شود که با حفظ نسبی هوشیاری یا ازدست‌رفتن هوشیاری، خود را نشان می‌دهد. یکی از انواع صرع، صرع لب‌گیجگاهی است که رایج‌ترین صرع موضعی در افراد بزرگ به‌شمارمی‌آید و به درمان‌های دارویی نیز درجاتی مختلف از مقاومت را نشان می‌دهد که به دلیل تشکیل مراکز تخلیه مکرر هیپوکامپ یا آمیگدال رخ می‌دهد و تشنج‌ها با ازدست‌رفتن هوشیاری همراه بوده، درخصوص آن خیره‌شدن و خودمختاری سیستم گوارش مشاهده می‌شود؛ از نظر پاتوژنز، این صرع به دلیل تغییرهای ساختمانی و متابولیک در مدارهای عصبی لب‌گیجگاهی رخ می‌دهد (۱و۲)؛ از طرف دیگر، حملات مکرر صرع، موجب کاهش محسوس یادگیری و حافظه در بیماران مبتلا می‌شود (۳). به‌رغم آنکه در چند سال اخیر، پیشرفت‌های شگرفی دربارهٔ درمان دارویی بیماری صرع به‌دست آمده‌است و داروهای ضدصرع متعدد به بازار دارویی ارائه شده‌اند، همچنان حدود یک‌سوم بیماران به این درمان‌های دارویی پاسخ مناسب نداده، مصرف درازمدت خود داروها نیز به‌طور عملی در جلوگیری از پیشرفت بیماری و روند پاتوژنز آن، چندان تأثیر ندارد (۴).

در چند سال اخیر، استفاده از مواد طبیعی با خاصیت حفاظت عصبی و آنتی‌اکسیدانی در درمان بیماری‌های شایع عصبی در اولویت قرار گرفته‌است (۵)؛ در این خصوص، اسید آسکوربیک یا ویتامین C در گروه آنتی‌اکسیدان‌ها دارای اثر حفاظت عصبی و بهبوددهندگی یادگیری و حافظه است و در مدل صرع

القاشده توسط پیلوکارپین، اثر ضد تشنجی دارد (۱۰-۶). با توجه به شباهت بالای مدل صرع القاشده توسط تزریق داخل مغزی اسید کاینیک با روند پاتوژنیک صرع لب‌گیجگاهی در انسان و اهمیت بالینی این نوع صرع (۱)، هدف بررسی حاضر، تعیین اثر سودمند تجویز اسید آسکوربیک در مدل تجربی صرع القاشده توسط اسید کاینیک در موش صحرایی بر میزان یادگیری و حافظه با استفاده از روش‌های رفتاری است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از موش‌های بزرگ نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۸۰ تا ۳۲۰ گرم به تعداد ۳۲ سر استفاده شد و حیوانات به‌طور تصادفی به چهار گروه یکسان تقسیم شدند. تمام حیوانات در دمای ۲۱ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های چهارتایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوانات آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش به‌مدت شش هفته دسترسی داشتند و مطالعه براساس قوانین و دستورالعمل‌های توصیه‌شده توسط انستیتوی ملی بهداشت آمریکا (NIH) به‌انجام رسید.

موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه «کنترل (جراحی کاذب)، کنترل مثبت (صرعی شده و دریافت‌کننده اسید والپروئیک)، صرعی و صرعی دریافت‌کننده اسید آسکوربیک» تقسیم شدند. برای صرعی کردن حیوانات از اسید کاینیک (سیگما، آمریکا) به میزان ۴ میکروگرم به‌ازای هر موش، حل شده در محلول نرمال سالین تزریق شده به داخل ناحیه CA3 هیپوکامپ سمت راست با مختصات قدامی خلفی: ۴/۱ میلی‌متر، جانبی: ۴ میلی‌متر و وینترال ۴/۲ میلی‌متر زیر سطح جمجمه با استفاده از سرنگ هامیلتون (حجم تزریقی برابر با ۵ میکرولیتر) و به روش استریوتاکسی و بیهوشی با کلرال هیدرات (۳۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) استفاده شد؛ گروه شم نیز فقط محلول سالین را با همان حجم دریافت کرد. اسید آسکوربیک به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور روزانه و به‌صورت

الف) سازش: در این مرحله، پیش از آغاز آزمایش، هر حیوان برای دو روز متوالی دست کم به مدت ۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار داده شد.

ب) اکتساب: در این مرحله (روز سوم)، حیوان در محفظه روشن قرار داده می‌شد و به مدت ۲ دقیقه، این محفظه تاریک نگهداشته می‌شد. در این مدت در گیلوتینی ارتباط‌دهنده محفظه روشن و تاریک به طور کامل، بسته بود. در انتهای دوره، لامپ محفظه روشن و در گیلوتینی باز می‌شد. به محض باز کردن در، کورنومتر به کار انداخته می‌شد و مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان از محفظه روشن به محفظه تاریک برود، یادداشت می‌شد که به مدت زمان این تأخیر اولیه، عنوان «تأخیر اولیه یا IL» اطلاق شد (ملاک برای ورود حیوان به محفظه تاریک، عبور اندام‌های حرکتی پشتی حیوان از در ارتباط‌دهنده دو محفظه بود)؛ سپس، در پایین آورده می‌شد و یک تک‌شوک به حیوان وارد می‌آمد. در پایان کار پس از ۱ دقیقه، حیوان به قفس منتقل می‌شد. در خصوص این مرحله، موش‌های دارای تأخیر اولیه بیشتر از ۶۰ ثانیه از آزمایش‌ها حذف شدند.

ج) نگهداری اطلاعات: این مرحله ۲۴ ساعت پس از مرحله دوم در روز چهارم انجام پذیرفت؛ این مرحله مشابه مرحله پیشین بود با این تفاوت که وقتی حیوان به محفظه تاریک وارد می‌شد، هیچ‌گونه شوکی را دریافت نمی‌کرد؛ در این مرحله، تأخیر در حین عبور یا STL اندازه‌گیری شد. منظور از تأخیر در حین عبور، مدت زمانی است که پیش از آنکه حیوان به محفظه تاریک، وارد شود، در محفظه روشن باقی می‌ماند؛ زمان قطع آزمایش (Cut off) نیز ۳۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

آزمون ماز Y

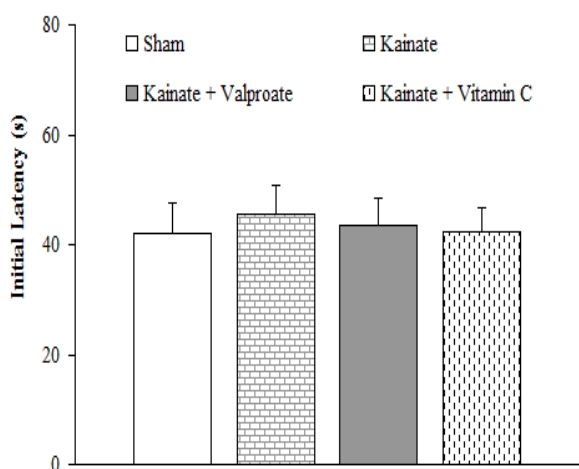
آزمون ماز Y در پایان کار و دو تا سه روز پیش از تست رفتار اجتنابی انجام پذیرفت؛ در این خصوص، میزان عملکرد حیوانات از نظر حافظه کاری از طریق مشاهده و اندازه‌گیری کردن رفتار تناوب خود به خودی حیوان، در یک جلسه کاری، مورد بررسی قرار گرفت.

داخل صفاقی و از یک هفته پیش از جراحی به طور روزانه به حیوان تا ۱ ساعت پیش از جراحی تجویز شد. برای جلوگیری از ایجاد زخم در ناحیه تزریق، محل تزریق روزانه عوض و آن ناحیه با بتادین ضد عفونی شد؛ همین برنامه تجویز در خصوص اسید والپروئیک نیز با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اجرا شد. برای حل کردن اسید آسکوربیک و اسیدوالپروئیک از محلول نرمال سالین استفاده شد. حجم تزریق برای هر حیوان نیز ۰/۳ میلی‌لیتر بود. طی ۲۴ ساعت اول پس از جراحی، موش‌ها از نظر رفتار تشنجی بر اساس تقسیم‌بندی راسین (رتبه‌بندی از ۰ تا ۵) در یک فاصله زمانی ۴ ساعته با استفاده از دوربین ثبت رفتار و انتقال داده‌ها به رایانه ارزیابی شدند؛ در این خصوص، نمره ۰ برای عدم مشاهده پاسخ، نمره ۱ برای مانتینگ، چشم‌ک‌زدن، یا کلونوس صورت در حد خفیف، نمره ۲ برای تکان دادن سر یا کلونوس‌های متعدد در ناحیه سر، نمره ۳ برای پرش‌های میوکلونیک در اندام‌های حرکتی جلو، نمره ۴ برای تشنج‌های کلونیک در اندام حرکتی جلویی و بلند شدن روی دو پا و نمره ۵ برای تشنج‌های کلونیک و سرتاسری در بدن و ازدست رفتن تعادل در نظر گرفته شد. در آخر هفته چهارم پس از جراحی، برای ارزیابی یادگیری و حافظه حیوانات نیز از روش استاندارد رفتار اجتنابی غیرفعال و ماز Y در پایان کار به شرح زیر استفاده شد.

آزمون رفتار اجتنابی غیرفعال

برای بررسی رفتار احتراز غیرفعال، از یک دستگاه به ابعاد ۲۰×۸۰×۲۰ سانتی‌متر (شامل باکس) دارای یک محفظه روشن و یک محفظه تاریک استفاده شد. میله‌های فلزی موجود در کف محفظه تاریک برای شوک‌دادن به پای حیوان به کار گرفته شدند. برای اعمال تحریک به محفظه تاریک، از دستگاه استیمولاتور خاص (بهبود پرداز، تهران) استفاده شد؛ بدین منظور، تک‌تحریکی با شدت ۱ میلی‌آمپر و به مدت ۱ ثانیه اعمال شد. در این مطالعه، روش بررسی رفتار احترازی غیرفعال پس از بررسی به شرح زیر بود:

حیوان برای تثبیت اطلاعات در انبارهای حافظه و به یاد آوردن آنهاست؛ این مؤلفه در گروه صرعی شده با اسید کاینیک به طور معنی دار و بارز نسبت به گروه با جراحی کاذب (گروه شم) کمتر بود ($p < 0/05$)؛ به علاوه، این مؤلفه در گروه صرعی شده با اسید کاینیک و تحت پیش درمان با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسید آسکوربیک نیز یک کاهش معنی دار در مقایسه با گروه شم نشان داد ($p < 0/05$) و تفاوت موجود میان دو گروه صرعی شده با اسید کاینیک و گروه صرعی شده دریافت کننده اسید آسکوربیک از نظر آماری به حد معنی دار نرسید؛ در ضمن، تأخیر در حین عبور در گروه صرعی شده و تحت تیمار با والپروئات (گروه کنترل مثبت) نیز تفاوت معنی دار نسبت به گروه صرعی شده نشان داد، هرچند میزان آن در گروه صرعی دریافت کننده ویتامین C بیشتر از گروه صرعی شده بود.



نمودار ۱. میزان تأخیر اولیه در آزمون اجتنابی غیرفعال در موش های کنترل و صرعی تیمار شده با اسید آسکوربیک به میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پس از گذشت چهار هفته

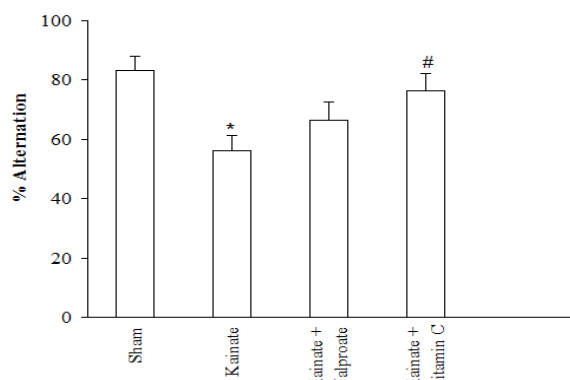
ماز مربوط به این آزمون از جنس پلکسی گلاس و هر بازو دارای ابعاد ۱۵×۳۰×۴۰ سانتی متر بود که بازوها از طریق یک محوطه مرکزی به هم متصل می شدند. برای انجام آزمون، هر موش صحرائی در قسمت انتهایی یک بازو قرار داده می شد و امکان دسترسی آزاد آن به تمام نواحی ماز در یک دوره زمانی ۸ دقیقه ای فراهم می شد. تعداد دفعات ورود حیوان به داخل هر بازو با مشاهده کردن ثبت می شد. ورود حیوان به داخل یک بازو زمانی بود که پاهای عقبی حیوان به طور کامل در داخل بازو قرار می گرفتند. رفتار تناوب به عنوان ورودهای موفق و پشت سرهم (سریال) به داخل تمام بازوها در مجموعه های سه تایی در نظر گرفته شد؛ بدین ترتیب، درصد تناوب، از نسبت تناوب مشاهده شده به حداکثر تناوب (۲ - تعداد کل بازوهای وارد شده) $100 \times$ محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

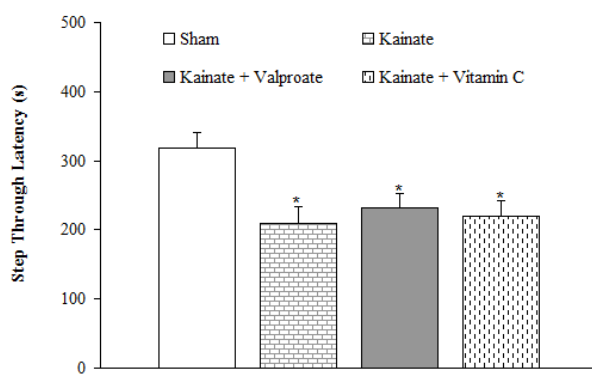
از نظر آماری، تمامی نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (SEM) بیان شدند. پس از مشخص کردن توزیع داده ها، از آزمون غیر پارامتریک کروسکال والیس برای آنالیز داده های آزمون های رفتاری استفاده شد؛ آزمون آنوای یک طرفه نیز برای آنالیز کمیت رفتار تشنجی به کار گرفته شد. در تمام بررسی ها $p < 0/05$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

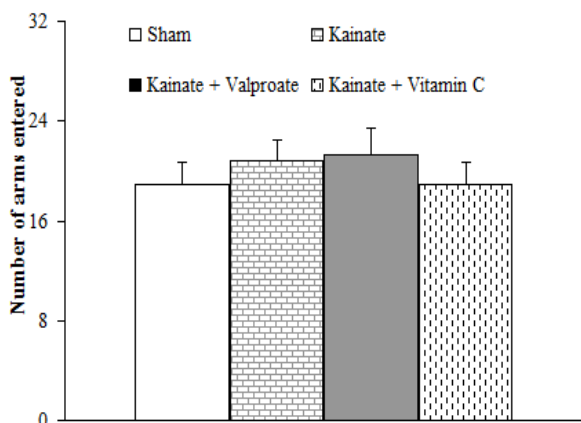
نمودار ۱، نتایج مربوط به اندازه گیری تأخیر اولیه در آزمون رفتار اجتنابی غیرفعال را در موش های گروه های مختلف نشان می دهد. تأخیر اولیه که خود نشان دهنده توانایی حیوان برای اکتساب این رفتار است، در گروه های صرعی شده با اسید کاینیک و تحت تیمار با اسید آسکوربیک و صرعی شده با اسید کاینیک و تحت تیمار با اسید والپروئیک (گروه کنترل مثبت) در مقایسه با گروه کنترل با جراحی کاذب تفاوت معنادار نشان نداد. نمودار ۲، نتایج مربوط به اندازه گیری تأخیر در حین عبور را در موش های گروه های مختلف نشان می دهد؛ در این خصوص، تأخیر در حین عبور، شاخصی از توانایی



نمودار ۳. میزان درصد تناوب در آزمون ماز Y در موش‌های کنترل و صرعی تیمار شده با اسید آسکوربیک به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پس از گذشت چهار هفته * $P < 0.05$ (در مقایسه با گروه صرعی تیمار نشده) # $P < 0.05$ (در مقایسه با



نمودار ۲. میزان تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیرفعال در موش‌های کنترل و صرعی تیمار شده با اسید آسکوربیک به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پس از گذشت چهار هفته * $P < 0.05$ (در مقایسه با گروه کنترل با جراحی کاذب)



نمودار ۴. میزان رفتار حرکتی حیوان به صورت تعداد کل بازوی وارد شده در آزمون ماز Y در موش‌های کنترل و صرعی تیمار شده با اسید آسکوربیک به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پس از گذشت چهار هفته

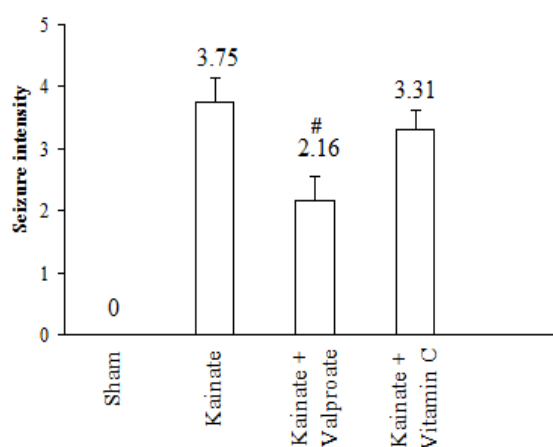
نمودار ۵. نتایج مربوط به کمیت رفتار تشنجی حیوان را بر اساس تقسیم‌بندی راسین (رتبه‌بندی از ۰ تا ۵) در ۲۴ ساعت اول پس از جراحی در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد؛ در این خصوص در گروه کنترل با جراحی کاذب (گروه شم) در عمل، هیچ‌گونه رفتار تشنجی در حیوانات مشاهده نشد. در گروه صرعی شده با اسید کاینیک، یک رفتار تشنجی بارز با نمره میانگین ۳/۷۵

نمودار ۳. عملکرد موش‌های گروه‌های مختلف را در آزمون ماز Y نشان می‌دهد. از این آزمون برای اندازه‌گیری حافظه فضایی از نوع بازشناختی استفاده می‌شود؛ در این خصوص، درصد تناوب در گروه صرعی شده با اسید کاینیک به‌طور معنی‌دار از گروه شم کمتر بود ($P < 0.05$). در گروه صرعی شده با اسید کاینیک و تحت پیش‌درمان با اسید آسکوربیک، این مؤلفه نسبت به گروه صرعی شده در حد معنادار بیشتر بود ($P < 0.05$)؛ به‌علاوه، تفاوت موجود میان دو گروه صرعی شده با اسید کاینیک و تحت پیش‌درمان با اسید والپروئیک و گروه صرعی شده با اسید کاینیک نیز از نظر آماری در حد معنادار نبود، هرچند که مقدار آن بیشتر بود. نمودار ۴، نتایج مربوط به میزان تحرک حیوان را در آزمون "Y maze" در موش‌های گروه‌های مختلف نشان می‌دهد؛ برای این منظور، تعداد کل بازوهای وارد شده در هر جلسه به‌عنوان شاخصی از میزان تحرک حیوان لحاظ شدند؛ از این نظر، در عمل، تفاوت معنادار و چشمگیر میان گروه‌های مختلف مشاهده نشد که خود به‌خوبی نشان‌دهنده آن است که اعمال انجام شده درباره آنها به‌طور محسوس بر رفتار حرکتی حیوان تأثیر نداشته‌اند.

تناوب در آزمون ماز Y در دو گروه صرعی شده و تحت تیمار با اسید آسکوربیک به طور معنی دار از گروه صرعی شده، بیشتر بود و اسید والپروئیک چنین اثری را از خود نشان نداد.

صرع لب گیجگاهی از نظر بالینی، نوعی صرع موضعی و مزمن به حساب می آید که خود را با حملات تشنجی مکرر نشان می دهد (۱)؛ در این خصوص، این کانون های صرعی به تدریج به سایر نواحی سیستم لمبیک گسترش یافته، با دژنراسیون بارز نورونی، خود را نشان می دهند (۱). هم در بیماران مبتلا به صرع لب گیجگاهی و هم در مدل های حیوانی صرع القاشده توسط تزریق داخل هیپوکامپی (ناحیه CA3 یا ناحیه CA1)، اسید کاینیک یا سایر مواد با خاصیت سمیت تحریکی (اگزکسایتوتوکسیک)، به دلیل آسیب نورون های هدف (دژنراسیون نورون های پیرامیدال CA3 و سلول های هیلار دنتیت) که دارای تراکم بالای رسپتورهای گلوتامات (نظیر رسپتورهای کاینیک) هستند، اسپروتینگ فیبرهای آوران گلوتاماترژیک از ناحیه ژيروس دنتیت (آکسون های سلول های گرانولی (که به نام فیبرهای موسی شناخته می شوند) رخ داده، تشکیل سیناپس های جدید در لایه ملکولی ناحیه دنتیت هیپوکامپ اتفاق می افتند که این جزو مشخصات بافتی صرع لب گیجگاهی القاشده توسط تزریق داخل هیپوکامپی اسید کاینیک است و می تواند موجب تشدید فعالیت مسیرهای گلوتاماترژیک در آن ناحیه هیپوکامپ شود که در نهایت می تواند خود را به صورت درجات مختلف حملات صرع با توجه به شدت آسیب نشان دهد (۱ و ۲). در اینجا یک مدار دائمی با عملکرد مکرر تشکیل می شود که به فواصل زمانی مختلف با توجه به سطح تحریک پذیری، حملات صرعی و تشنجی با ماهیت خودبه خودی را ایجاد خواهد کرد (۳). تغییرهایی مشابه نیز در بیماران مبتلا به همین نوع صرع رخ می دهد و به همین دلیل، القای صرع لب گیجگاهی با استفاده از تزریق داخل هیپوکامپی اسید کاینیک به حالت واقعی آن در انسان، بسیار نزدیک است (۱)؛ در این بررسی نیز از

مشاهده شد و پیش درمان با اسید آسکوربیک، باعث کاهش معنی دار در رفتار تشنجی حیوانات نشد، هرچند شدت رفتار تشنجی کمتر بود؛ به علاوه، پیش درمان با اسید والپروئیک در گروه صرعی شده در مقایسه با گروه پیش درمان با اسید آسکوربیک، کاهش بیشتری را از نظر رفتار تشنجی به دنبال داشت به طوری که اختلاف میان دو گروه صرعی شده و پیش تیمار والپروئات و گروه صرعی شده از نظر آماری به حد معنی دار رسید ($P < 0.05$).



نمودار ۵. شدت رفتار تشنجی براساس تقسیم بندی راسین در موش های کنترل و صرعی تیمار شده با اسید آسکوربیک به میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم طی ۲۴ ساعت اول پس از جراحی
 # $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه صرعی شده)

بحث

نتایج این تحقیق نشان دادند که پیش درمان با اسید آسکوربیک، باعث کاهش معنی دار در رفتار تشنجی حیوانات در مقایسه با گروه صرعی شده با اسید کاینیک نمی شود؛ درباره تأخیر اولیه نیز تفاوت معنادار از نظر آماری میان گروه ها مشاهده نشد، تأخیر در حین عبور در گروه صرعی شده و تحت پیش درمان با اسید آسکوربیک نسبت به گروه صرعی شده، تفاوت معنی دار نشان نداد و حتی پیش درمان با اسید والپروئیک نیز موجب افزایش معنادار آن در مقایسه با گروه صرعی نشد و درصد

همین مدل صرع لب گیجگاهی استفاده شد.

وجود اختلال یادگیری و حافظه و نقایص شناختی در مدل‌های تجربی صرع در حیوانات آزمایشگاهی پیش‌تر مورد تأیید قرار گرفته است (۳)؛ در این خصوص مشخص شده است که در صرع القاشده توسط تزریق داخل صفاقی پنتیلن تترازول به روش کیندلینگ و تجویز در دوزهای افزایش‌یابنده ماده، نوروهای دخیل در یادگیری و حافظه در ناحیه هیپوکامپ (نواحی CA1، CA3، و دنتیت) دچار آسیب شده‌اند و همین واقعه در خصوص برخی نوروهای آمیگدال و قشر انورینال نیز رخ می‌دهد که این می‌تواند بخشی از اختلال‌های یادگیری و حافظه را در حالت صرع توجیه کند (۵)؛ به‌علاوه، بروز حالت صرع و حملات تشنجی آن، موجب تشدید استرس اکسیداتیو در مغز از جمله در ناحیه هیپوکامپ می‌شود که این، یکی از دلایل اصلی دژنراسیون نوروها و نقص یادگیری و حافظه در موش‌های صرعی به‌شمار می‌آید (۶) که در بررسی ما نیز، این اختلال خود را به‌صورت کاهش زمان تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیرفعال و کاهش حافظه فضایی در آزمون Y نشان داد.

در خصوص اثرهای سودمند اسید آسکوربیک بر حافظه فضایی در این بررسی، مشخص شده است که برخی مواد آنتی‌اکسیدان قادر به اعمال اثرهای ضدصرعی در بدن هستند (۴). نتایج بررسی‌های پیشین نشان می‌دهند که آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق کاهش دادن استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نواحی دخیل در پاتوژنز صرع، شامل هیپوکامپ، موجب کاهش شدت و احتمال رخداد صرع در حیوانات آزمایشگاهی می‌شوند (۵)؛ در همین خصوص، مطالعات نشان می‌دهند که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند از طریق افزایش پایداری غشاهای سلولی، موجب افزایش مقاومت نوروها در برابر آسیب اکسیداتیو شوند و از طرفی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را در برابر آسیب اکسیداتیو افزایش دهند (۱۰ و ۱۱). با توجه به اینکه در بررسی

حاضر، اثر اسید آسکوربیک در کاهش حملات تشنجی در حد معنی‌دار مشاهده نشد، احتمال داده می‌شود که اثر حفاظتی این ویتامین، کمتر از سایر آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر ویتامین E می‌تواند بوده باشد؛ به‌علاوه، گزارشی وجود دارد مبنی بر اینکه اسید آسکوربیک علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در پاره‌ای از شرایط در جهت تشدید استرس اکسیداتیو در بافت مغز عمل کند (۱۱)؛ در این خصوص، مطالعه آیدوگان و همکارانش در سال ۲۰۰۸ نشان می‌دهد که تجویز اسید آسکوربیک در دوز ۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موجب تشدید پراکسیداسیون لیپیدی و بالا رفتن سطح مارکرهای استرس اکسیداتیو در بافت مغز موش‌های صحرایی نر می‌شود (۱۱) که این نکته به‌احتمال، مانع از آن شده که این ویتامین بتواند بهبودی یادگیری و حافظه را در آزمون اجتنابی غیرفعال در موش‌های صحرایی به‌دنبال داشته باشد و اثری ضد تشنجی در حد مطلوب از خود به‌جا بگذارد که خود به بررسی‌های بیشتر نیاز دارد.

در توجیه اثر اسید آسکوربیک بر حافظه فضایی آزمون Y، اثر حفاظتی آن در مدل صرع القاشده توسط اسید کاینیک در این تحقیق می‌تواند مطرح باشد؛ در همین خصوص، معلوم شده است که در حالت صرع، اتوفازای در برخی نواحی مغز افزایش می‌یابد و ترکیب‌های با خاصیت آنتی‌اکسیدان می‌توانند در جهت کاهش اتوفازای و مرگ نورونی عمل کنند (۹)؛ به‌علاوه، بخشی از اثر سودمند اسید آسکوربیک را به‌احتمال می‌توان به اثرهای حفاظت عصبی آن (۱۰) در جلوگیری از آسیب نوروهای هیپوکامپ به دنبال تزریق اسید کاینیک نسبت داد که این با کاهش دادن شدت جوانه‌زدن فیبرهای خزه‌ای در روزهای بعد، رفتار تشنجی کمتری را به‌دنبال دارد؛ به‌علاوه، مشخص شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها به دلیل خاصیت حذف‌کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن، توانایی بهبود یادگیری و حافظه را دارند (۱۰) و به‌احتمال، اسید آسکوربیک، بخشی از آثار سودمند خود بر حافظه فضایی را از این طریق اعمال کرده است؛ به‌علاوه، بخشی دیگر از اثر

حافظه درباره اسید آسکوربیک در حالت‌های با تشدید استرس اکسیداتیو نیز اثبات شده است (۱۴). به‌طور خلاصه، پیش‌تیمار با اسید آسکوربیک در موش صرعی هرچند بر توانایی نگهداری اطلاعات و به‌یادآوردن آنها در آزمون اجتنابی غیرفعال تأثیر ندارد، موجب بهبود حافظه فضایی می‌شود.

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر، حاصل پایان‌نامه دانشجویی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۸۹ است و با حمایت مالی این دانشگاه به‌انجام رسیده است.

منابع

- Morimoto K, Fahnestock M, Racine RJ. Epilepsy. *Progress in Neurobiology* 2004; 73:1-60.
- Aylward RL. Epilepsy: a review of reports, guidelines, recommendations and models for the provision of care for patients with epilepsy. *Clinical Medicine* 2008; 8: 433-8.
- Nassiri-Asl M, Mortazavi SR, Samiee-Rad F, Zangivand AA, Safdari F, Saroukhani S, et al. The effects of rutin on the development of pentylenetetrazole kindling and memory retrieval in rats. *Epilepsy Behavior* 2010; 18:50-3.
- Giblin KA, Blumenfeld H. Is epilepsy a preventable disorder? New evidence from animal models. *Neuroscientist* 2010; 16: 253-75.
- Rostami S, Momeni Z, Behnam Rasouli M, Ghayour N. Comparison of antioxidant effect of Melissa officinalis leaf and vitamin C in lead acetate-induced learning deficits in rat. *Medical Daneshvar* 2010; 17: 47-54.
- Tom Ada R, Feitosa CM, Freitas RM. Neuronal damage and memory deficits after seizures are reversed by ascorbic acid? *Arq Neuropsiquiatr* 2010; 68(4): 579-85.
- Kumar RS, Narayanan SN, Nayak S. Ascorbic acid protects against restraint stress-induced memory deficits in Wistar rats. *Clinics (Sao Paulo)* 2009; 64(12): 1211.
- Shahidi S, Komaki A, Mahmoodi M, Atrvash N, Ghodrati M. Ascorbic acid supplementation could affect

سودمند اسید آسکوربیک بر حافظه فضایی در بررسی حاضر را می‌توان به تقویت سیستم کولینرژیک در حضور این آنتی‌اکسیدان نسبت داد (۱۲): در این خصوص، مشخص شده است که ایجاد صرع در حیوانات آزمایشگاهی با گذشت زمان، موجب تضعیف عملکردی سیستم کولینرژیک مرتبط با یادگیری و حافظه می‌شود و تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها به‌احتمال، می‌تواند سطح فعالیت این سیستم را به سمت طبیعی تغییر دهد (۱۳) که این درخصوص اسید آسکوربیک نیز می‌تواند برقرار باشد؛ بنابراین، ماده اخیر به‌احتمال از طریق تشدید فعالیت سیستم کولینرژیک و بهبود متابولیسم میانجی‌های عصبی، موجب بهبود حافظه فضایی در این بررسی شده است؛ در تأیید این یافته‌ها، اثر بهبوددهندگی

- passive avoidance learning and memory in rat. *Brain Research Bulltin* 2008; 76(1-2): 109-13.
- Parle M, Dhingra D. Ascorbic Acid: a promising memory-enhancer in mice. *Journal of Pharmacological Science* 2003; 93(2):129-35.
- Santos LF, Freitas RL, Xavier SM, Saldanha GB, Freitas RM. Neuroprotective actions of vitamin C related to decreased lipid peroxidation and increased catalase activity in adult rats after pilocarpine-induced seizures. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 2008;89(1):1-5.
- Aydoğan M, Korkmaz A, Barlas N, Kolankaya D. The effect of vitamin C on bisphenol A, nonylphenol and octylphenol induced brain damages of male rats. *Toxicology* 2008; 249(1): 35-9.
- Dhingra D, Parle M, Kulkarni SK. Comparative brain cholinesterase-inhibiting activity of *Glycyrrhiza glabra*, *Myristica fragrans*, ascorbic acid, and metrifonate in mice. *Journal of Medicinal Food* 2006; 9(2):281-3.
- Friedman A, Behrens CJ, Heinemann U. Cholinergic dysfunction in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2007; 48: 126-30.
- Saberi M, Gholizadehmoghadam S, Sharifzadeh M. Assessment of diazinone-induced oxidative stress on memory acquisition in male rats. *Medical Daneshvar* 2010; 17(87):19-28.

Daneshvar
Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
21st Year, No.110
April- May, 2014*

Received: 2014/02/16

Last revised: 2014/04/08

Accepted: 2014/04/10

The protective effect of ascorbic acid on learning and memory deficit in kainate-epileptic rat

Zahra Kiasalari^{1*}, Mohsen Khalili¹, Mehrdad Roghani¹, Vahide Alimoradi²

1. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.
2. MD graduate from Shahed University, Tehran, Iran.

E-mail: Kiasalari@shahed.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Epileptic seizures lead to a problem in learning and memory. In view of the protective effect of ascorbic acid (vitamin C), the aim of this study was to investigate the effect of this substance on impairment of learning and memory in an experimental model of temporal lobe epilepsy in kainate-epileptic rat.

Materials and Methods: In this experimental study, rats were divided into four groups: sham, positive control, epileptic, and epileptic group receiving the ascorbic acid. Kainic acid was used for induction of epilepsy. Ascorbic acid was injected intraperitoneally at a dose of 100 mg/kg/day from one week before surgery. Initial and step through latencies in the passive avoidance test and alternation behavior percentage in Y maze were also determined.

Results: Pretreatment with vitamin C does not significantly decrease seizure behavior compared with epileptic group. Regarding initial latency there was no statistically significant difference between groups. Step through latency in vitamin C pretreated group has no significant change versus epileptic group. Alternation behavior percentage in vitamin C pretreated epileptic group was significantly greater than epileptic group ($p < 0.05$).

Conclusion: Although pretreatment with vitamin C does not affect the ability to store and recall in passive avoidance test, but could cause an improvement in spatial memory.

Key words: Ascorbic acid, Temporal lobe epilepsy, Seizure, Memory and Learning