Archive of SID

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره ششم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۸۶، ۲۳۶-۲۲۷

اثر مصرف خوراکی لسیتین و ویتامین A بر یادگیری متعاقب تخریب دو طرفه نواحی خلفی جانبی CA1 در موش صحرایی

محمدرضا آفرینش[۱]، دکتر احمدعلی معاضدی[۲]، دکتر مهدی عباس‌نژاد[۳]، دکتر وحید شیبانی[۴]

دریافت مقاله: ۸۵/۲/۱۳ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۶/۲/۱ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۶/۶/۱۸ پذیرش مقاله: ۸۶/۷/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات بی‌شماری در زمینه درمان بیماری‌های شناختی نظیر آلزایمر و فراموشی در جریان می‌باشد. بیشتر مطالعات انجام شده در این زمینه، نقش هیپوکامپ را در یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی تأیید می‌نماید. در تحقیق حاضر اثرات تجویز خوراکی لسیتین و ویتامین A بر یادگیری احترازی در عدم حضور نواحی خلفی جانبی CA1 هیپوکامپ بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، یادگیری و حافظه احترازی غیر فعال ۵۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد NMRI با میانگین وزن ۲۵±۲۷۵ گرم با استفاده از دستگاه شاتل باکس ارزیابی شد. موش‌ها به هشت گروه (مساوی) تقسیم شدند. در گروه کنترل هیچ گونه تجویزی صورت نگرفت. در گروه شاهد، آب مقطر تجویز دهانی شد. در گروه شاهد جراحی، فقط الکترود به نواحی خلفی جانبی CA1 هیپوکامپ به صورت دو طرفه وارد می‌شد، اما در گروه تخریب این نواحی به وسیله جریان الکتریکی تخریب شدند. در گروه پنجم (تخریب+آب مقطر)، گروه ششم (تخریب+ لسیتین ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه هفتم (تخریب+ ویتامین A با مقدار ۸۰۰۰۰ واحد بر کیلوگرم) و در گروه هشتم (تخریب+ لسیتین + ویتامین A) انجام شد. تجویزها در حجم ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم به صورت دهانی و به مدت یک هفته هر روز و یک ساعت قبل از هر آزمایش صورت می‌گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بین گروه شاهد جراحی و گروه تخریب اختلاف معنی‌داری از نظر مرحله به خاطرآوری اول و دوم وجود دارد ($p< ۰/۰۵$). هم‌چنین تجویز خوراکی لسیتین به صورت توام با ویتامین A می‌تواند حافظه احترازی غیر فعال را در موش‌های صحرایی نسبت به گروه تخریب + آب مقطر بهبود بخشد ($p<۰/۰۵$). هم‌چنین تجویز خوراکی ویتامین A با مقدار ۸۰۰۰۰ واحد بر کیلوگرم کاهش حافظه ناشی از تخریب دو طرفه نواحی CA1 هیپوکامپ را افزایش نمی‌دهد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: تخریب موضعی ناحیه CA1 هیپوکامپ به طور دو طرفه سبب کاهش حافظه احترازی غیرفعال می‌شود. به نظر می‌رسد که تجویز توأم لسیتین و ویتامین A می‌تواند حافظه احترازی غیرفعال موش‌ها را متعاقب تخریب CA1 بهبود دهد.

واژه‌های کلیدی: هیپوکامپ، لسیتین، ویتامینA، حافظه احترازی غیر فعال

۱- (نویسنده مسؤول)کارشناس ارشد مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

تلفن : ۲۱۲۰۵۴۶-۰۳۴۱، فاکس:۲۱۱۱۰۱۰-۰۳۴۱، پست الکترونیکی: reza.afarinesh@Gmail.com

۲- استادگروه آموزشی زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

۳- استادیار گروه آموزشی زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۴ - استادیار گروه آموزشی فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

مطالعات متعددی در رابطه با نقش قسمت‌های مختلف مغز از جمله هیپوکامپ، آمیگدال و تالاموس بر روی حافظه و یادگیری انجام شده است. در این میان هیپوکامپ یکی از ساختارهایی می‌باشد که نقش مهمی در حافظه و یادگیری دارد[۳-۱]. هیپوکامپ و ساختمان‌های مجاور آن دارای ارتباطات گسترده مستقیم و غیرمستقیم با قسمت‌های زیادی از قشر مخ، ساختمان‌های اصلی دستگاه لیمبیک یعنی آمیگدال، هیپوتالاموس، سپتوم، اجسام پستانی و قشر جلوی پیشانی می‌باشد [۳-۲]. مشخص شده است تخریب دو طرفه هیپوکامپ سبب اختلال در حافظه و یادگیری می‌شود و هم‌چنین تخریب یک طرفه این تشکیلات متناسب با وسعت تخریب موجب بروز اختلالات مشابه ولی با درجه کمتری در حافظه و یادگیری می‌گردد [۳]. بیشتر اطلاعات درباره عملکرد هیپوکامپ از مطالعات تخریبی شامل تخریب‌های ژنتیکی، جراحی و دارویی حاصل شده است [۴].

فسفاتیدیل کولین (لسیتین) علاوه بر این که از ترکیبات مهم غشاء سلولی می‌باشد به عنوان پیش‌ساز میانجی عصبی استیل‌کولین در مغز دارای اهمیت است [۵]. مشخص شده که می‌توان از فسفاتیدیل کولین به عنوان منبع کولین استفاده کرد و تجویز دهانی لسیتین سبب افزایش یادگیری می‌شود [۷-۶]. هم‌چنین گزارش گردیده که سیستم عصبی کولینرژیک نقش مهمی در فعالیت‌های ادراکی و شناختی نظیر حافظه و یادگیری بر عهده دارد و بر طبق این گزارشات در آسیب‌های سیستم کولینرژیک حافظه کاهش می‌یابد [۸-۷].

از طرفی گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد رتینوئیک اسید در سلول‌های مورینی سپتال از طریق فعال کردن ژن VAcht نقش مهمی در ترشح وزیکول‌های محتوی استیل کولین به پایانه سیناسپی و هم‌چنین افزایش سنتز آنزیم استیل‌کولین ترانسفراز دارد و بدین روش افزایش سنتز و ترشح استیل‌کولین را سبب می‌شود [۹].

مشخص گردیده که لسیتین و ویتامینA قادر به عبور از سد خونی مغز می‌باشند [۱۱-۱۰]. هم‌چنین در مطالعات قبلی ابراز شد که تجویز خوراکی توأم لسیتین و ویتامین A می‌تواند باعث افزایش یادگیری در دستگاه ماز T شکل شود [۱۲]. با توجه به این که ناحیه CA1 هیپوکامپ، وسیع‌ترین ناحیه هیپوکامپ بوده و در اعمال اثرات بسیاری از میانجی‌های عصبی و داروها بر رفتارهای یادگیری مؤثر می‌باشد [۳]، در این مطالعه به منظور بررسی نقش ناحیه CA1 هیپوکامپ بر یادگیری موش صحرایی متعاقب تجویز دهانی لسیتین و ویتامین A، این ناحیه به صورت دو طرفه بوسیله جریان الکتریسیته تخریب شد و پس از تجویز دهانی لسیتین (۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ویتامین A (با مقدار ۸۰۰۰۰ واحد بر کیلوگرم) به طور مجزا و توأم، عملکرد هیپوکامپ موش صحرایی بررسی و مطالعه گردید.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی: این مطالعه از نوع تجربی (Experimental) بوده و در تمامی آزمایش‌های انجام شده از موش‌های صحرایی نژاد NMRI با میانگین وزنی ۲۵±۲۷۵ گرم استفاده گردید. موش‌ها در خانه حیوانات در قفس‌های مخصوص در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند. در تمامی مراحل انجام این پژوهش مصوبات مربوط به اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی هم‌چون دسترسی آزادانه به آب و غذا، کشتن بدون درد، جلوگیری از درد ناشی از جراحی به عنوان مثال استفاده از لیدوکائین در حین عمل و جلوگیری از افزایش بیهوده موش در هر گروه رعایت گردیده است.

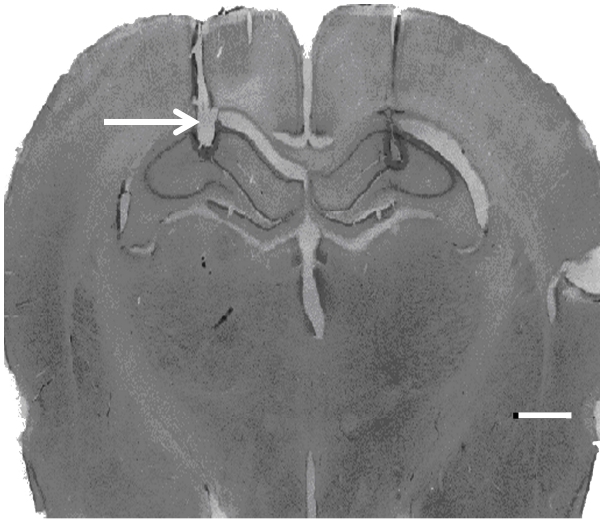
ارزیابی یادگیری و حافظه احترازی غیر فعال: به منظور مطالعه بهبود عملکرد ناحیه CA1 هیپوکامپ متعاقب تخریب الکتریکی، رفتار احترازی غیر فعال موش‌ها در دستگاه شاتل باکس، متشکل از دو جعبه یکسان به ابعاد (۲۰×۲۰×۳۰) سانتی‌متر از جنس پلاکسی گلاس بررسی شد. زمان تأخیر در ورود به جعبه تاریک قبل از اعمال شوک (با مشخصات ۲

www.SID.ir

Archive of SID

ثانیه، ۰/۵ میلی‌آمپر، ۵۰ هرتز) و زمان تأخیر در ورود به جعبه تاریک پس از اعمال شوک به ترتیب ۱۰ دقیقه (مرحله به خاطر آوری اول)، ۴۸ ساعت (مرحله به خاطرآوری دوم) و یکماه (مرحله به خاطرآوری سوم) اندازه‌گیری شد.

تخریب نواحی CA1 هیپوکامپ: جهت تخریب نواحی خلفی جانبی CA1 هیپوکامپ، مطابق با مـــــختصات اطلس پاکسینوس (D=۲/۶، L=±۲/۲، AP=۳/۶) این نواحی به صورت دوطرفه و با استفاده از دستگاه تخریب کننده و الکترود تک قطبی(monopolar) به وسیله جریان الکتریکی ۰/۵ میلی‌آمپر و مدت زمان ۳۰ ثانیه تخریب شده و یک هفته بعد از دوره بهبودی بررسی رفتاری انجام شد. به منظور کسب اطمینان از جایگاه الکترود در پایان آزمایش مغز حیوان خارج و در فرمالین ۱۰٪ ثابت می‌شد. با استفاده از رنگ‌آمیزی نیسل محل ایجاد ضایعه در ناحیه مورد نظر مورد تأیید قرار می‌گرفت (شکل ۱).



شکل ۱- مقطع عرضی از هیپوکامپ موش صحرایی که با روش نیسل رنگ‌آمیزی شده است. پیکان محل ورود الکترود و ستاره محل تخریب الکتریکی را در نواحی CA1 هیپوکامپ نشان می‌دهد. مقیاس برابر با ۰/۷ میلی‌متر است.

گروه‌ها و دارو: موش‌ها در ۸ گروه هفت تایی تقسیم‌بندی شدند. بدین ترتیب که در گروه اول (کنترل) هیچ‌گونه تجویزی صورت نگرفت. در گروه دوم (شاهد) به وسیله گاوج به مدت یک هفته آب مقطر تجویز دهانی شد. در گروه سوم، جراحی مشابه گروه‌های آزمایش صورت گرفت اما نواحی خلفی جانبی CA1 هیپوکامپ تخریب نشد (شاهد جراحی). در گروه چهارم (گروه تخریب) نواحی خلفی جانبی CA1 هیپوکامپ به صورت دو طرفه تخریب شد. در گروه پنجم (تخریب+آب مقطر) پس از ایجاد ضایعه همزمان با طی کردن دوره بهبودی، آب مقطر به مدت یک هفته به وسیله گاوج تجویز دهانی گردید. با توجه به نتایجی که از آزمایشات قبلی به دست آمده بود [۱۴-۱۲] در گروه ششم پس از عملیات تخریب همزمان با طی کردن دوره بهبودی، لسیتین با مقدار ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (ساخت کارخانه مرک آلمان با قابلیت انحلال در آب) تجویز دهانی گردید.

در گروه هفتم نیز پس از عملیات تخریب همزمان با طی کردن دوره بهبودی، ویتامین A با مقدار ۸۰۰۰۰ واحد بر کیلوگرم (ساخت کارخانه مرک آلمان با قابلیت ایجاد میسل در آب) و در گروه هشتم پس از عملیات تخریب مقادیر توأم (لسیتین با مقدار ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ویتامین A با مقدار ۸۰۰۰۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم) به وسیله گاوج تجویز دهانی گردید. در تمامی موارد حجم تجویز (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در نظر گرفته شد.

برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد و در هر مورد که پاسخ معنی‌دار بود، برای پیدا کردن جایگاه اختلاف از پس آزمون توکی - کرامر استفاده گردید. در همه موارد سطح معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از این پژوهش به روش ANOVA دنبال شده با پس آزمون توکی- کرامر نشان داد که بین گروه‌های کنترل، گروه شاهد و گروه شاهد جراحی تفاوت معنی‌داری از نظر زمان تأخیر در ورود به جعبه تاریک قبل از اعمال شوک و نیز مراحل به خاطر آوری اول، دوم و سوم وجود ندارد. بنابراین تجویز دهانی با گاوج یادگیری و حافظه احترازی غیر فعال را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد (جدول ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج نشان داد بین گروه شاهد جراحی با گروه تخریب از نظر مرحله به خاطرآوری اول و دوم یعنی ۱۰ و ۳۰ دقیقه پس از آموزش اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۵$) به طوری که تخریب دوطرفه نواحی CA1 هیپو کامپ باعث کاهش حافظه در گروه تخریب شد.

همچنین بین گروه تخریب با گروه تخریب+آب مقطر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). بنابراین از گروه تخریب+آب مقطر جهت مقایسه‌های بعدی استفاده شد.

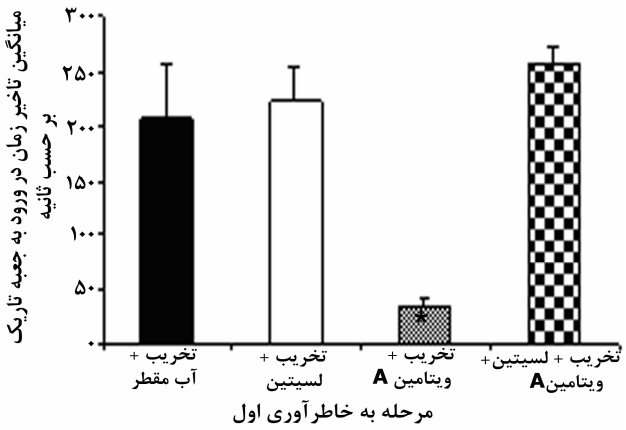
جدول ۱- نتایج حاصل از پارامترهای ارزیابی شده با دستگاه شاتل باکس بین گروه‌های کنترل، شاهد، شاهد جراحی، تخریب و (تخریب+آب مقطر)

گروه	میانگین زمان تأخیر در ورود به جعبه تاریک قبل از اعمال شوک برحسب ثانیه	میانگین زمان تأخیر در ورود به جعبه تاریک ۱۰ دقیقه پس از شوک برحسب ثانیه	میانگین زمان تأخیر در ورود به جعبه تاریک ۴۸ ساعت پس از شوک برحسب ثانیه	میانگین زمان تأخیر در ورود به جعبه تاریک یک ماه پس از شوک برحسب ثانیه
کنترل	۱۲/۵±۵/۷	۲۵۵/۵±۳۷/۱	۱۳۵/۵ ±۵۸/۳	۲۵/۷ ±۶/۷
شاهد	۶/۵±۱/۱	۳۰۰±۰	۲۳۰/۵±۲۲/۷	۴۱/۵ ±۹/۹
شاهد جراحی	۳/۳±۰/۴	۲۱۸/۶±۳۷/۸	۱۵۰/۹±۴۰/۱	۳۸۱/۹ ±۶/۱
تخریب	۱۳/۵±۳/۴	۱۲۱/۳±۲۲/۱	۳۸/۹±۸/۸	۲۱/۶±۶/۶
تخریب+ آب مقطر	۱۲/۵±۲/۳	۲۰۷/۵±۵۰	۲۲/۰۹±۲/۵	۱۲/۷ ±۲/۳

داده‌ها بر اساس میانگین ± خطای معیار می باشد (n=۷).

مقایسه بین گروه تخریب+آب مقطر و گروه ویتامین A از نظر مرحله به خاطرآوری اول تفاوت معنی‌دار نشان داد ($p<۰/۰۵$). بر این اساس میانگین زمان تأخیر در ورود به جعبه تاریک در مرحله به خاطرآوری اول در گروه تخریب + ویتامین A نسبت به گروه تخریب+آب مقطر کاهش می‌یابد (نمودار ۱).

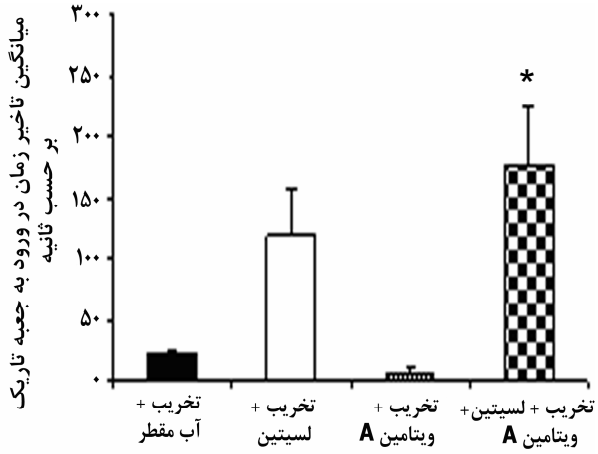
آزمون توکی کرامر همچنین نشان داد که بین گروه تجویز مقادیر توأم (لسیتین + ویتامین A) با گروه تخریب+آب مقطر، از نظر مراحل به خاطرآوری دوم و سوم، اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($p<۰/۰۵$). بر این اساس در گروه تجویز مقادیر توأم (لسیتین + ویتامین A)، میانگین زمان تأخیر در ورود به جعبه تاریک نسبت به گروه تخریب+آب مقطر افزایش نشان داد. این نتایج همچنین نشان داد که بین گروه ویتامین A یا گروه لسیتین در مقایسه با گروه تخریب+آب مقطر از نظر مراحل به خاطرآوری دوم و سوم تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (نمودار ۲ و ۳).



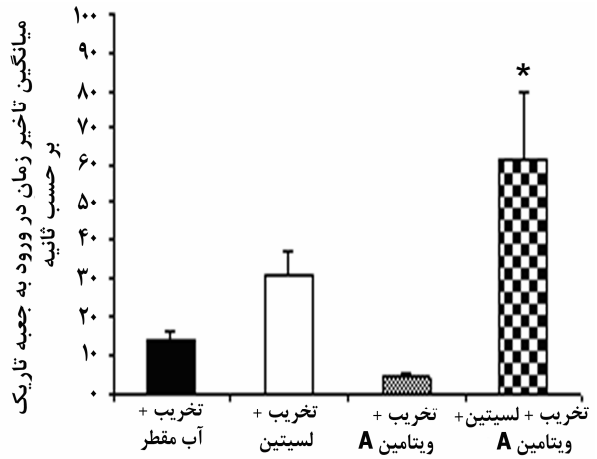
نمودار ۱- مقایسه بین گروه (تخریب+آب مقطر)، گروه (تخریب + لسیتین)، گروه (تخریب + ویتامین A) و گروه (تخریب+ لسیتین+ویتامین A) با استفاده از آزمون آماری One way ANOVA، از نظر مدت زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک پس از ۱۰ دقیقه (مرحله به خاطرآوری اول). ستاره اختلاف معنی‌داری بین گروه (تخریب+ ویتامین A) با گروه تخریب+آب مقطر را نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$*). داده‌ها بر اساس Mean±SEM است (n=۷).

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار۲- مقایسه بین گروه (تخریب+آب مقطر)، گروه (تخریب + لسیتین)، گروه (تخریب + ویتامین A) و گروه (تخریب+ لسیتین+ ویتامین A) با استفاده از آزمون آماری One way ANOVA، از نظر مدت زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک پس از ۴۸ ساعت (مرحله به خاطرآوری دوم). ستاره اختلاف معنی‌داری بین گروه (تخریب+ لسیتین+ویتامین A) با گروه تخریب+آب مقطر را نشان می‌دهد (*: p<۰/۰۵). داده‌ها بر اساس Mean±SEM است (n=۷).



نمودار۳- مقایسه گروه (تخریب+آب مقطر)، گروه (تخریب + لسیتین)، گروه (تخریب + ویتامین A) و گروه (تخریب+ لسیتین+ویتامین A) با استفاده از آزمون آماری One way ANOVA، از نظر مدت زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک پس از ۳۰ روز (مرحله به خاطرآوری سوم). ستاره اختلاف معنی‌داری بین گروه (تخریب+ لسیتین+ویتامین A) با گروه تخریب+آب مقطر را نشان می‌دهد (*: p<۰/۰۵). داده‌ها بر اساس Mean±SEM است (n=۷).

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که میانگین زمان‌های تأخیر در ورود به جعبه تاریک در مرحله به خاطرآوری اول بین گروه تخریب، با گروه شاهد جراحی دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد. بر این اساس در گروه تخریب میانگین زمان‌های تأخیر در ورود به جعبه تاریک ۱۰ و ۳۰ دقیقه پس از اعمال شوک کاهش نشان داد. این یافته‌ها نشان می‌دهد تخریب نواحی CA1 هیپوکامپ به صورت دوطرفه باعث کاهش حافظه احترازی غیرفعال می‌شود. در این زمینه Martinez و همکارانش (۲۰۰۲) گزارش دادند که تخریب نواحی CA1 و CA3 هیپوکامپ سبب کاهش یادگیری و حافظه احترازی غیرفعال می‌شود. آن‌ها هم‌چنین گزارش دادند که هیپوکامپ نقش ضروری در مرحله اکتساب یادگیری احترازی در دستگاه شاتل باکس ندارد، اما نقش بسیار مهمی در به خاطرآوری اطلاعات و آموخته‌های قبلی بر عهده دارد [۱۵]. هم‌چنین Chaichenko (۱۹۸۴) گزارش داد که تخریب دوطرفه هیپوکامپ پشتی موش صحرایی منجر به کاهش یادگیری و حافظه احترازی غیرفعال موش در دستگاه شاتل باکس می‌شود [۱۶].

مطالعه حاضر نشان داد که تجویز لسیتین به تنهایی به صورت غیرمعنی‌داری سبب افزایش حافظه احترازی غیرفعال پس از تخریب موضعی ناحیه CA1 می‌شود. در رابطه با اثرات لسیتین بر روی یادگیری و حافظه گزارشات بسیاری وجود دارد. Chung و همکارانش (۱۹۹۵) گزارش دادند که تجویز فسفاتیدیل کولین و کولین به موش‌های سالم علی‌رغم این که سطح غلظت کولین مغز در نواحی هیپوکامپ و مغز جلویی را افزایش می‌دهد بر حافظه احترازی غیرفعال اثری ندارد. آن‌ها گزارش دادند که لسیتین می‌تواند یادگیری و حافظه غیر فعال را در موش‌هایی که به طور ژنتیکی سطح کولین و فسفاتیدیل کولین پایینی در نواحی هیپوکامپ و قشر مغز دارند بهبود بخشد [۱۷].

www.SID.ir

Archive of SID

به طور کلی سیستم عصبی کولینرژیک نقش مهمی در فعالیت‌های ادراکی و شناختی نظیر حافظه و یادگیری بر عهده دارد و آسیب سیستم کولینرژیکی حافظه را کاهش می‌دهد [۱۹-۱۸، ۷]. داروی AF64A به عنوان آنتاگونیست کولین و نیز سیکلوهگزامید به عنوان یک مهار کننده سنتز پروتئین سبب اختلالاتی در یادگیری فضایی و رفتاری می‌شوند. تجویز لسیتین می‌تواند احتمالاً از طریق بهبود عملکرد سیستم کولینرژیک و سرتونرژیک، اختلالات ناشی از این دارو را بهبود دهد [۲۱-۲۰]. در این مطالعه بخشی از ناحیه CA1 هیپوکامپ بدلیل تخریب غیربرگشتی الکتریکی فاقد عملکرد می‌باشد. بنابراین با توجه به این که سیستم کولینرژیک نقش مهمی در اعمال شناختی و یادگیری ایفا می‌کند، موادی همچون لسیتین که سیستم‌های میانجی عصبی مخصوصاً کولینرژیک را تقویت می‌کند [۱۵،۲۸]، می‌توانند از طریق تقویت مسیرهای دست نخورده در هیپوکامپ و نیز مناطق خارج هیپوکامپی که درگیر در حافظه و یادگیری می‌باشند، سبب بهبود یادگیری متعاقب تخریب شود.

این مطالعه هم‌چنین نشان داد که ویتامین A با مقدار ۸۰۰۰۰ واحد بر کیلوگرم باعث بهبود نقصان حاصل از تخریب دو طرفه CA1 هیپوکامپ نمی‌شود. در پژوهش قبلی ما نیز مشخص شده بود که این دوز از ویتامین A می‌تواند زمان یادگیری فضایی موش‌های سالم را افزایش دهد [۱۴]. مشخص شده که محرومیت از ویتامین A علی‌رغم کاهش سطح استیل‌کولین هیپوکامپ تأثیری بر حافظه کارکردی موش‌های صحرایی ندارد [۲۲]. از طرفی میلز و همکارانش گزارش دادند که تجویز اتانول مزمن که سبب اختلالاتی در مسیر بیوسنتز رتینوئیک اسید می‌شود، موجب کاهش ترشح استیل کولین در نرون‌های هیپوکامپی موش صحرایی نر می‌شود و از این طریق یادگیری و حافظه احترازی فعال کاهش می‌یابد [۲۴-۲۳]. در موش‌هایی که گیرنده‌های رتینوئیک اسید جهش یافته‌اند، فقدان ویتامین A سبب اختلال در فرآیندهای یادگیری می‌شود [۲۶-۲۵]. این تناقضات در نتیجه‌گیری‌های فوق می‌تواند مربوط به اختلاف در روش‌های آزمایش و دوزهای مورد استفاده باشد. همان‌طور که ما در آزمایش‌های قبلی نتیجه گرفته بودیم که تأثیر ویتامین A روی یادگیری کاملاً وابسته به دوز است [۱۲،۱۴] و یا ممکن است این نتایج تحت تأثیر عوارض ناشی از هیپرویتامینوز A قرار گرفته باشند.

تجویز مقادیر توأم لسیتین و ویتامین A متعاقب تخریب موضعی CA1 باعث افزایش حافظه احترازی غیرفعال در دستگاه شاتل باکس گردید. در پژوهش قبلی ما تجویز توأم لسیتین با ویتامین A یادگیری و حافظه تمایزی موش‌های صحرایی سالم را در دستگاه ماز T- شکل افزایش داد [۱۲]. پژوهش‌های انجام شده در زمینه اثرات فسفاتیدیل کولین بر حافظه و یادگیری حیوانات نشان داده است که فسفاتیدیل کولین، یادگیری را در موش‌های جوان بهبود نمی‌دهد اما در موش‌های مسن، حافظه احترازی را در دستگاه شاتل باکس بهبود می‌بخشد [۲۷]. علاوه بر آن از لسیتین به عنوان ماده افزایش دهنده کولین و استیل کولین در مغز در درمان بیماری آلزایمر استفاده می‌شود [۲۸]. از طرفی گزارش شده که اضافه کردن رتینوئیک اسید به محیط کشت سلول‌های مورینی، ترشح استیل‌کولین و مقدار آنزیم استیل‌کولین ترانسفراز را افزایش می‌دهد [۹]. هم‌چنین مشاهده شده است که در موش‌هایی که دوره نوزادی به مدت ۱۲ هفته از ویتامین A در رژیم غذایی محروم شده بودند،کاهش ترشح استیل‌کولین در هیپوکامپ به وسیله تجویز ویتامین A بهبود یافت [۲۹]. مشخص شده است که کمبود ویتامین A سبب کاهش تقویت طولانی مدت در موش‌های جوان می‌گردد [۳۰].

هم‌چنین در نورون‌های کولینرژیک، یک سیستم با میل ترکیبی بالا برای انتقال کولین به نام High Affinity Choline Transport (HAChT) وجود دارد که جایگاه آن در پایانه اکسونی است. گزارش شده است که این سیستم در ارتباط با آنزیم استیل کولین ترانسفراز می‌باشد [۹]. بنابراین احتمالاً

www.SID.ir

Archive of SID

لسیتین از طریق افزایش کولین [۳۱] و هم‌چنین ویتامین A از طریق فعال کردن سیستم HAChT، جذب کولین را به داخل نورون‌های کولینرژیک افزایش می‌دهند و نیز این ویتامین می‌تواند غلظت آنزیم استیل کولین تراسفراز و در نتیجه غلظت استیل کولین در پایانه سیناپسی را افزایش دهد. از طرفی گزارش شده است فعالیت مشترک گیرنده‌های استیل کولین و ان‌متیل‌دی‌اسپارتات N-methyl-D- aspartate (NMDA) باعث افزایش سنتز پروتئین در دندریت سلول‌های ناحیه هرمی CA1 می‌شود. بنابراین ممکن است تجویز توأم لسیتین و ویتامین A از طریق افزایش تعداد سیناپس‌ها و افزایش خار دندریتی [۲۸]، یادگیری و حافظه احترازی غیرفعال را متعاقب ایجاد ضایعه در نواحی CA1 هیپوکامپ در موش‌های صحرایی نر بهبود بخشد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه به طور کلی چنین نتیجه‌گیری شد که تخریب دو طرفه در نواحی CA1 هیپوکامپ سبب کاهش یادگیری احترازی غیرفعال می‌شود. متعاقب تخریب الکتریکی دو طرفه نواحی CA1 هیپوکامپ، تجویز دهانی مقادیر توأم (لسیتین و ویتامین A) حافظه احترازی غیرفعال را در دستگاه شاتل باکس بهبود می‌دهد. احتمالاً اثر تجویز توأم این دو دارو از طریق افزایش سطح کولین و آنزیم استیل‌کولین ترانسفراز مغز سبب بهبود حافظه موش‌های با هیپوکامپ آسیب دیده می‌شود اما تبیین این نتایج مستلزم ارزیابی دقیق‌تر از جمله اندازه‌گیری سطح کولین و آنزیم استیل‌کولین ترانسفراز مغز می‌باشد.

References

[1] Victor M, Ropper AH. Adams and victor's Principle of neurology. 7th ed. New York: McGraw-Hill. 2001; pp: 456-7

[2] Ganong WF. Review of Medical Physiology. 18th ed. Stamford, CT: Appleton and Lange. 1999; pp: 251-82.

[3] Longstaff A. Neuroscience. 1th ed. biddies LTD. Guild Ford Press. 2000; pp: 375-83, 390-6.

[4] Lathe R. Hormones and the hippucampus. *J Endocrinol*, 2001; 169(2): 205-31.

[5] Alfonso R. Gennaro. Remingtons pharmaceutical science. 18th ed. Merck Publishing Company. 1990; pp:390

[6] Jope Sr. Free and bound choline blood levels after phosphatidyl choline. *Clin Pharmacol Ther*, 1982; 31(4):483-7.

[7] Koppen A, Klein J, Erb C, Loffelholz K. Acetylcholine release and choline availability in rat hippocampus. effects of exogenous choline and nicotinamide. *J Pharmacol Exp Ther*, 1997; 282(3): 1139-45.

[8] Fukuchi K, Deeb SS, Kamino K, Ogburn CE, Snow AD, Sekiguchi RT, et al. Increased expression of beta-Amyloid protein precursor and microtublo-associated proteinT during the differentiation of marine embryonal carcinoma cells. *J Neurochem*, 1992; 58: 1863-73.

[9] Bussiere M, Vance JE, Compenot RB, Vance DE. Compartmentalization of choline and acetylcholine metabolism in cultured sympathetic neurons. *J Biochem*, 2001; 130(4): 561-8.

[10] Werner EA, Deluca HF. Retinoic acid is detected at relatively high levels in the CNS of adult rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002; 282(3): 672-8.

www.SID.ir

Archive of SID

[11] Klein J, Köppen A, Löffelholz K. Uptake and storage of choline by rat brain: influence of dietary choline supplementation. J Neurochem, 1991; 57(2): 370-5.

[12] Afarinesh M, Moazedi AA, Abbasnegad M.The effect of lecithin (Lc) & retinoic acid (RA) on spatial learning in adult male rat [Farsi]. *Journal of biology of Iran*, 2003; 17 (3): 261-271.

[13] Afarinesh M, Moazedy AA, Abbasnegad M, Adel M. The effect of oral Lecithin on spatial learning of adult male rat [Farsi]. *Journal of Rafsanjan University of medical sciencse*, 2004; 3(3): 141-148.

[14] Afarinesh M, Moazedi AA, Abbasnegad M, The effect of Retinoic acid on spatial learning of adult male rat [Farsi]. *Journal of Razi Faculty of Nursing and Midwifery*, 2003-2004; 3(2):31-38.

[15] Martinez I, Quirate GL, Diaz-Cintras, Quiroz C, Prado-Alcal RA. Effects of lesions of hippocompal fields CA1 and CA3 on acquisition of inhibitory avoidance. *Neuropsychobio*logy. 2002; 46(2): 97-103.

[16] Chaichenko GM. Functinal role of the dorsal and ventral hippocampous defensive behavior in the rat. *Zh Vyssh Nerve Nerve Diet*, 1984; 34(6): 1109-15.

[17] Chung SY, Moriyame T, Uezu E, Uezu K, Hirata R, Yohena N, et al. Administration of phosphatidyl choline increases brain acetylcholine concentration and improves memory in with dementia. *J Nutr*, 1995; 125(6): 1484-9.

[18] Goldberg E, Gerstman LJ, Mattis S, Hughes JE, Sirio CA, Bilder RM Jr. Selective effects of cholinergic treatment on verbal memory in posttraumatic amnesia. *J Clin Neuropsychol*, 1982; 34(3): 219-34.

[19] Lim SY, Suzuki H. Intakes of dietary docosahexaenoic acid ethyl ester and egg phosphatidylcholine improve maze-learning ability in young and old mice. *J Nutr*, 2000; 130(6): 1629-32.

[20] Abe E, Murai S, Saieo H, Masuda Y, Takasu Y, Shiotani T, et al. Effects of nefiracetam on deficits in active avoidance response and hippocampal cholinergic and monoaminergic dysfunctions induced by AF64A in mice. *J Neural Transm Gen Sect*, 1994; 95(3): 179-93

[21] Furushiro M, Suzuki S, Shishido Y, Sakai M, Yamatoya H, Kudo S, Hashimoto S, Yokokura T. Effects of oral administration of Soybean Lecithin Trans-phosphatidylated phosphatidyl serin on impaired learning of passive avoidance in mice. *JPN J Pharmacol*, 1997; 75(4):447-50.

[22] Stancampiano R, Carta M, Fadda F. Vitamin A deficiency affects neither frontocortical acetylcholine nor working memory. *Neuroreport*, 2007; 18(3): 241-3.

[23] Alfos S, Boucheron C, Pallet V, Higueret D, Enderlin V, Beracochea D, et al. A retinoic acid receptor antagonist suppresses brain reverses a working memory deficit induced by chronic ethanol consumption in mice. *Alcohol Clin Exp Res*, 2001; 25(10): 1506-14.

[24] Melis F, Stancampiano R, Imperato A, Carta G, Fadda F. Chronic ethanol consumption in rats: correlation between memory performance and hippocampal acetyl choline release in vivo. *Neuroscience.* 1996; 74(1): 155-9.

[25] Drager UC . Retinoic acid signaling in the functioning brain. *Sci STKE*, 2006; 2006(324): 10.

[26] Chiang MY, Misner .D, Kempermann G, Schikorski T, Giguere V, Sucou HM, et al. An essential role for retinoid receptors RARbeta and RXRgamma in long-term potentiation and depression. *Neuron*. 1998; 21(6): 1353-61.

[27] Leathwood PD, Heck E, Mauron J. Phosphatidyl choline and avoidance performance in 17 month-old SEC/1ReJ mice. *Life Sci*, 1982; 30(13): 1065-71.

[28] Buchman AL, Sohel M, Bron M, Jenden DJ, Ahn C, Roch M, et al. Verbal and visual memory improve after choline supplemental in long-term toeal parental nutrition:a pitot study. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2001; 25(1):30-5.

[29] Cocco S, Diaz G, Stancampiano R, Diana A, Carta M, Curreli R, et al. Vitamin A dificiency produces spatial

www.SID.ir

Archive of SID

learning and memory impairment in rats. *Neuroscience*, 2002; 115(2): 475-82.

[30] Mao CT, Li TY, Liu YX, Qu P. Effects of marginal vitamin A deficiency and intervention on learning and memory in young rats. *Zhonghua Er Ke Za Zhi,* 2005; 43(7): 526-30.

[31] Kataoka-Kato A, Ukai M, Sakai M, Kudo S, Kameyama T. Enhanced learning of normal adult rodents by repeated oral administration of soybean transphosphatidylated phosphatidylserine. *J Pharmacol Sci*, 2005; 98(3): 307-14.

www.SID.ir

Archive of SID

The Effect of Oral Lecithin and Vitamin A on Learning Following Lesion of Posterolateral Area of CA1 of Rat

M. Afarinesh MSc [1], **AA. Moazedi** PhD [2], **M. Abbasnegad** PhD [3], **V. Sheibani** PhD [4],

Received: 13/12/06 **Sent for Revision: 14/04/07** **Received Revised Manuscript: 21/06/07** **Accepted: 16/07/07**

Background and Objective: There are a number of studies, which focused on the improvement of reorganization disease such as Alzheimer. These investigations emphasis on the role of hippocampus on spatial learning of rats. In this study, we investigated the effects of oral administration of lecithin (Lc) and Vitamin A (VitA) on learning and memory of the adult male rats in absence of posterolateral area of CA1 (PLCA1).

Materials and Methods: In this experimental study 56 adult male NMRI rats (275±25g) were used. After lesion in PLCA1 all animals were trained for passive avoidance memory (PAM) by shuttle box. The animals were divided into 8 groups as follow: Control [(non administration), sham (Oral distilled water (dw), sham operated (only electrode insertion), Lesion (le) (PLCA1 disrupted)], four test groups (le +dw), (le + Lc 120 mg/kg), (le + VitA 80000Iu/kg) and (le+ Lc + VitA). All administrations (10 mg/kg B.W) were done orally for 7days, one hour before each experiment.

Results: The result showed significant difference between Le and sham operated groups regarding first and second phase of remembering ($p<0.05$). Co-administration of Lc and VitA can repair PAM of injured rats in comparison with le+dw group significantly ($p<0.05$), and the VitA had no significant effect on the IAM of injured rats. Administration of VitA significantly reduced memory of the rat-PLCA1 ($p<0.05$).

Conclusion: Bilaterally local lesion of CA1 is able to reduce passive avoidance memory. It seems that co-administration of Le and VitA, can improve PAM of CA1–lesion rats.

Key words: Hippocampus, Lecithin, Vitamin A, Inactive Avoidance Memory

Funding: This research was funded by Shaheed Chamran University.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Shaheed Chamran University approved this study.

1-MSc, Neuro Sciences Reaserch Center, University of Medical Sciences, Kerman, Iran
(Corresponding Author) Tel: (0341) 2120546, Fax: (0341) 2111010, Email: rezaafarinesh@Gmail.com
2- Prof., Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Shaheed Chamran University, Ahvaz, Iran
3- Assistant Prof., Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Shaheed Bahonar University, Kerman, Iran
4- Assistant Prof., Dept. of Physiology, Biology Neuro Sciences Reaserch Center, University of Medical Sciences, Kerman, Iran

www.SID.ir