

اثر تزریق توأم اسید آسکوربیک و بروموکریپتین در پوسته هسته اکومبسن بر فعالیت حرکتی در موش‌های صحرائی نر در مدل Open Field

فاطمه شهسواری، مهدی عباس نژاد*

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

پذیرش: ۲ بهمن ۹۱

دریافت: ۵ آبان ۹۱

چکیده

مقدمه: آسکوربیک اسید به عنوان یک ویتامین و نورومدولاتور در بیشتر نواحی مغز پستانداران به خصوص هسته اکومبسن که یکی از مناطق مهم در کنترل فعالیت حرکتی و اضطراب بشمار می‌رود، یافت می‌شود. در تحقیق حاضر به بررسی نقش تزریق اسید آسکوربیک و اثر تزریق توأم آن با بروموکریپتین در پوسته هسته اکومبسن بر حرکت و اضطراب موش‌های صحرائی پرداختیم.

روش‌ها: در این مطالعه از ۴۹ سر موش صحرائی نر از نژاد Wistar در محدوده‌ی وزنی ۲۷۰ - ۲۲۰ گرم در ۷ گروه استفاده شد. گروه کنترل، سه گروه دریافت‌کننده دوزهای (۱۲، ۲۴ و ۴۸) $\mu\text{g}/\text{rat}/\text{side}$ آسکوربیک اسید، گروه دریافت‌کننده آسکوربیک اسید و بروموکریپتین به صورت توأم (۲۵ $\mu\text{g}/\text{rat}/\text{side}$ Br و ۲۴ AA)، شاهد آسکوربیک اسید، شاهد توأم آسکوربیک اسید و بروموکریپتین. حجم تزریق دارو یک میکرولیتر و دوره تزریق ۱ بار و مدت زمان تست ۵ دقیقه بود.

یافته‌ها: نتایج تأکیدکننده یافته‌های قبلی هستند که اسید آسکوربیک به عنوان یک ترکیب موثر در تنظیم فعالیت حرکتی و اضطراب در پوسته هسته اکومبسن می‌باشد و در این رابطه گیرنده های D_2 می‌توانند نقش داشته باشند.

نتیجه‌گیری: نتایج تأکیدکننده یافته‌های قبلی هستند که اسید آسکوربیک به عنوان یک ترکیب موثر در تنظیم فعالیت حرکتی و اضطراب در پوسته هسته اکومبسن می‌باشد و در این رابطه گیرنده های D_2 می‌توانند نقش داشته باشند.

واژه‌های کلیدی: اسید آسکوربیک، پوسته هسته اکومبسن، بروموکریپتین، فعالیت حرکتی، این فیلد

مقدمه

علاوه بر فعالیت حرکتی، اضطراب هم به عنوان یک رفتار، حوزه مهمی از تحقیقات سایکوفارماکولوژی را در طی این دهه به خود اختصاص داده است. فعالیت حرکتی و اضطراب در مراکز متعدد عصبی از جمله: عقده‌های قاعده‌ای [۱۵]، تگمنتوم مزوپونتین [۲۷]، ناحیه تگمنتال شکمی [۲۵]، هیپوکمپ [۲۳]، هیپوتالاموس [۳۰]، آمیگدال [۳۰]، استریاتوم [۹] تنظیم می‌شوند.

نتایج آزمایشات نشان می‌دهد که هسته اکومبسن با توجه به فعالیت عملکردی، به صورت آناتومیکی یک ساختار ناهمگن است و حداقل دو بخش متفاوت شامل پوسته و مرکز دارد [۲۰]. به نظر می‌رسد پوسته و مرکز توسط مجموعه‌های

حرکت و رفتار حرکتی یکی از پیچیده‌ترین پدیده‌های فیزیولوژیک است که نقش مهمی در بقا و حیات جانور ایفا می‌کند. رفتار حرکتی در ایجاد رقابت‌های محیطی، انعطاف‌پذیری در پاسخ به تغییرات اجتماعی و موقعیت‌های غیر-اجتماعی، رفتارهای تهاجمی، جنگ و گریز و خصوصاً تولید مثل حائز اهمیت است [۲۸].

mabbas@mail.uk.ac.ir

* نویسندگان مسئول مکاتبات:

www.phypha.ir/ppj

وبگاه مجله:

غشای نورون‌ها یا سلول‌های گلیال می‌باشد [۳۴]. تصور می‌شود که اسید آسکوربیک دارای اثر خنثی کننده و متضادی بر تنظیم سیستم دوپامینرژیک باشد. اثر اسید آسکوربیک بر سیستم دوپامینرژیک بطور قابل ملاحظه ای به میزان دوز بستگی دارد، دوز کم عملکرد دوپامین را تشدید می‌کند در حالی که دوزهای بیشتر از عملکرد آن جلوگیری می‌کنند [۴۰]. چندین بررسی نشان داده است که این ویتامین به عنوان آنتاگونیست دوپامین در مغز عمل می‌کند و آزاد شدن دوپامین درون هسته اکومبسنس را کاهش می‌دهد [۳۲]. علاوه بر این، شواهد نشان داده است که اسید آسکوربیک تغییرات رفتاری ایجاد شده به وسیله آگونیست دوپامین (D-amphetamine) را کاهش می‌دهد [۴۰].

اسید آسکوربیک می‌تواند اتصال آگونیست‌های گیرنده دوپامینی (گیرنده D_1 و گیرنده D_2) را کاهش دهد و نیز سبب کاهش تولید آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP) در سلول‌های دارای گیرنده دوپامینی شود، بنابراین می‌توان گفت که این دارو با مهار سیستم دوپامینی همراه است [۴۳]. اسید آسکوربیک اثر آنتی دوپامینی هالوپریدول را در موش‌ها افزایش داده و به طور مستقیم نواحی اتصال دوپامینی جسم مخطط را تغییر داده و اتصال آنتاگونیست‌های دوپامین را به گیرنده‌های دوپامین مهار می‌کند [۴۶].

مطالعات نشان می‌دهند که سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلف مانند سیستم گلوتامینرژیک، دوپامینرژیک، کولینرژیک و سروتونرژیک می‌توانند در رهایش اسید آسکوربیک دخیل باشند [۱۷]، مثلاً تزریق آگونیست گیرنده‌های اینوتروپیک گلوتامینرژیک (iGLUs) مانند AMPA/kainate و NMDA به هسته اکومبسنس فعالیت حرکتی را تحریک کرده و برعکس داروهایی که در انتقال دوپامینرژیک مداخله می‌کنند این اثرات را مهار می‌کنند [۲۶]. اسید آسکوربیک توانایی برخی داروها را در آزاد کردن دوپامین در هسته اکومبسنس و استریاتوم تضعیف می‌کند، به عنوان مثال تجویز قبلی اسید آسکوربیک، تخلیه‌ی دوپامین ناشی از مت-آمفتامین را کاهش می‌دهد. پیش درمانی با AA (۲۰۰-۵۰۰ mg/kg) فعالیت حرکتی را در موش سوری بلوکه می‌کند. تجویز ۱۰۰۰ mg/kg اسید آسکوربیک، توانایی هالوپریدول را در بلوک کردن فعالیت حرکتی ناشی از

متفاوتی از نورون‌های دوپامینرژیکی عصب‌گیری شده باشند. پوسته حاوی شبکه دوپامینی غنی تری نسبت به مرکز بوده و غلظت دوپامین در پوسته بیشتر است. ظاهراً باند شدن گیرنده D_1 در نواحی منقاری هسته اکومبسنس در ناحیه پوسته نسبت به مرکز بیشتر باشد، در حالی که باندشدن گیرنده D_2 در مرکز بیشتر است [۳۸]. عصب‌گیری دوپامینرژیک متفاوت قشر و هسته اکومبسنس باعث شده است که این دو منطقه اثرات مجزا و حتی متضاد بر پردازش اطلاعات در آن داشته باشند، گفته شده قشر بیشتر در کنترل رفتارهای ترجیحی در خصوص یادگیری مرتبط با تغذیه است، در صورتی که مرکز بیشتر به عنوان یک ناحیه رله کننده پیام و تلفیق کننده پیام‌های مشخصی از لیمبیک و قشر مغز است [۲۰].

هسته اکومبسنس یک بخش مهم در خصوص ارتباط مغز جلویی با ساختارهای لیمبیک و سیستم حرکتی است و در تنظیم جنبه‌های گوناگون کنترل حرکت، انگیزش، یادگیری و... درگیر است [۳۳].

حدس زده می‌شود با توجه به موقعیت هسته اکومبسنس بین کمپلکس آمیگدالوئید، عقده‌های قاعده‌ای، هسته تالاموس پشتی-میانی و کورتکس پیش‌پیشانی، این ناحیه در پاتوفیزیولوژی اضطراب درگیر باشد [۴۲].

ویتامین C یا اسید آسکوربیک (AA)، در گروه ویتامین‌های محلول در آب قرار دارد. اسید آسکوربیک در مغز پستانداران بیش از هر بافت دیگری تجمع یافته است. غلظت اسید آسکوربیک بیشتر از $250 \mu\text{g/g}$ بافت تر در تعداد زیادی از ساختارهای مغز قدامی مانند هیپوکمپ، هسته اکومبسنس، جسم مخطط، هیپوتالاموس و سیتوم می‌باشد [۴۶]. علاوه بر نقش آنتی‌اکسیدانی، این ویتامین به عنوان یک کوفاکتور در واکنش‌های آنزیمی مهم، مانند سنتز کاتکولامین‌ها، کلاسترول، آمینواسیدها، برخی هورمون‌های پپتیدی و تولید نوراپی نفرین از دوپامین عمل می‌کند [۱۸]. همچنین اسید آسکوربیک به عنوان یک نورومدولاتور در سیستم عصبی مرکزی نیز معرفی شده است [۴۶]، این نقش در انتقال گابا ارژیک، گلوتامات-ارژیک، دوپامین ارژیک، کولینرژیک و رفتارهای مرتبط با آنها به اثبات رسیده است [۱۸]. آزادسازی آن از سلول‌های مغزی به طور عمده همراه با فعالیت نورون‌های گلوتامینرژیک، خصوصاً از طریق مبادله خلاف جهت آسکورات-گلوتامات از

گذاری شد [۳]. این مختصات شامل:

AP=1.7mm, ML= ±0.8 mm, DV = 5.6mm

پس از انجام عملیات کانول گذاری، با استفاده از سیمان دندانپزشکی کانول گذاشته شده ثابت شد.

موش‌های صحرایی به ۷ گروه تقسیم شدند: گروه کنترل (بدون جراحی)، شاهد اسید آسکوربیک (دریافت کننده نرمال سالین به عنوان حلال اسید آسکوربیک)، گروه‌های دریافت کننده دوزهای ۴۸، ۲۴ و ۱۲ $\mu\text{g}/\text{rat}/\text{side}$ اسید آسکوربیک (L-Ascorbic acid, Sigma A-7506, USA)، گروه دریافت کننده توأم اسید آسکوربیک و بروموکرپتین، شاهد توأم اسید آسکوربیک و بروموکرپتین (دریافت کننده حلال اسید آسکوربیک: نرمال سالین و حلال بروموکرپتین: ۱۰٪ اتانول ۹۶٪، ۵۰٪ پروپیلن گلیکول و ۴۰٪ نرمال سالین).

تزریق داروها بعد از طی دوره‌ی بهبودی (یک هفته بعد از جراحی) با استفاده از سرنگ هامپلتون و لوله پلی اتیلن شماره ۱۰ به کمک تکنیک پیش راندن حباب صورت گرفت، حجم تزریق دارو یک میکرولیتر، مدت زمان تزریق یک دقیقه بود.

تست رفتاری *Open Field*:

این تست برای اولین بار توسط Hall برای ارزیابی احساسات و هیجان پیشنهاد شده بود، اما این تست برای ارزیابی پاسخ‌های رفتاری مانند فعالیت حرکتی، بیش‌فعالی و رفتار جست و جوگرانه و همچنین اندازه‌گیری اضطراب نیز استفاده شده است [۴۵].

جنس و ابعاد و شکل و رنگ دستگاه بسته به پروتوکل متفاوت است [۶] در این پروتوکل دستگاه شامل یک جعبه از جنس چوب با ابعاد (۴۰×۶۰×۶۰ cm) با کف و دیواره‌های سیاه رنگ است. کف دستگاه به صورت مجازی توسط نرم‌افزار (Maze router) از طریق خطوط مربع و مشبک به ۲۵ ناحیه مساوی تقسیم شده است. پهنه‌ی اپن فیلد به دو ناحیه‌ی محیط و مرکز تقسیم می‌شود. معمولاً ۹ مربع وسط به عنوان ناحیه مرکزی و مربعات باقی مانده به عنوان نواحی حاشیه‌ای در نظر گرفته می‌شوند. افزایش در زمان گذرانده شده و تعداد ورود به مرکز می‌تواند به عنوان یک اثر شبه ضد اضطرابی محسوب شود، همچنین مربع کشیده شده در مرکز به منظور ارزیابی رفتار جست و جوگرانه استفاده می‌شود. کل مسافت طی شده و سرعت میانگین به عنوان شاخصی از فعالیت

دی-آمفتامین و بی حرکتی ناشی از هالوپریدول افزایش می‌دهد. همچنین، پیش تجویزی AA، در یک رفتار وابسته به دوز و زمان در دستگاه میدان باز، قادر به تضعیف فعالیت حرکتی افزایش یافته ناشی از تجویز حاد اتانول می‌باشد [۳۲]. برخی نتایج نشان می‌دهند که تجویز داخل صفاقی (IP) یا تزریق مرکزی (ICV) اسید آسکوربیک منجر به اثر شبه افسردگی در TST (Tail Suspension Test) می‌شود که به اینترکشن با سیستم مونوآمینرژیک بستگی دارد [۳۹]. با توجه به نقش هسته اکومبیس در تنظیم حرکات و اضطراب و نیز با توجه به اثر نورومدولاتوری اسید آسکوربیک در سیستم دوپامینی و نیز رهایش اسید آسکوربیک در هسته اکومبیس و خلاصه با اطلاع از اینکه سیستم دوپامینی در پوسته هسته انتشار بیشتری نسبت به مرکز دارد و مطالعات قبلی ما نیز در راستای مطالعه پوسته هسته اکومبیس می‌باشد، لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر تزریق توأم اسید آسکوربیک و بروموکرپتین در پوسته هسته اکومبیس بر فعالیت حرکتی و رفتارهای اضطرابی در موش‌های صحرایی نر در مدل Open Field بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، تعداد ۴۹ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد Wistar، در گروه‌های ۷ تایی با میانگین وزنی ۲۲۰ تا ۲۷۰ گرم استفاده شد، موش‌ها از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه شهید باهنر تهیه شدند. حیوانات در قفس‌های مخصوص در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای (۲۳±۲) درجه سانتیگراد در حیوانخانه، بدون محدودیت در مصرف غذا و آب نگهداری شدند.

برای رسیدن به پوسته هسته اکومبیس جراحی استریوتاکسی (با استفاده از دستگاه استریوتاکس تک بازویی Stoeling Co., USA) انجام شد. به منظور قراردادن کانول راهنما در این منطقه، ابتدا حیوانات با استفاده از مخلوط کتامین ۶۰ mg/kg و گزایلازین ۴ mg/kg (Alfasan Co, Netherlands) به صورت تزریق داخل صفاقی بیهوش می‌شدند. مختصات ناحیه پوسته هسته اکومبیس با استفاده از اطلس پاکسینوس-واتسون روی مجموعه حیوان علامت-

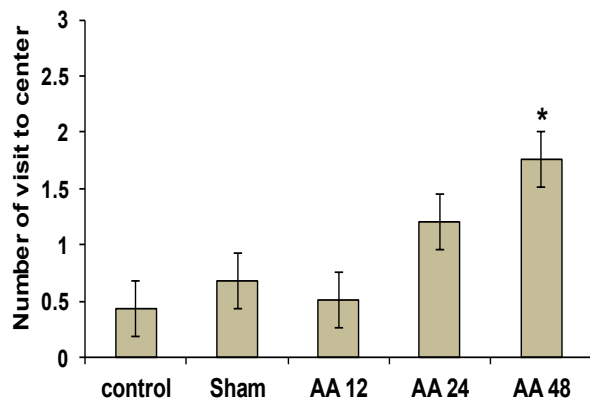
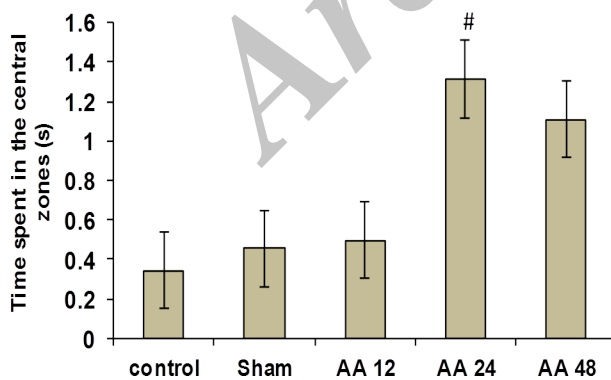
قرار گرفت. برای تعیین محل اختلاف از آزمون Tukey استفاده شد. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد و داده‌ها در کلیه نمودارها به صورت میانگین به اضافه منهای خطای استاندارد میانگین ($\text{mean} \pm \text{SEM}$) نشان داده شده است.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که: تزریق داخل پوسته اکومینسی دوز ۲۴ اسید آسکوربیک ($1/31 \pm 0/21$) منجر به افزایش زمان گذرانده شده در مرکز نسبت به گروه کنترل ($0/34 \pm 0/04$)، شم ($0/45 \pm 0/05$) و اسیدآسکوربیک با دوز ۱۲ ($0/49 \pm 0/25$) و دوز ۴۸ اسیدآسکوربیک ($1/76 \pm 0/64$) باعث افزایش تعداد ورود به مرکز در مقایسه با گروه کنترل ($0/42 \pm 0/07$) می‌شود ($P < 0.05$) (شکل ۱- A و B). کل مسافت طی شده در سراسر پهنه‌ی این فیلد توسط دوز ($48 \mu\text{g}/\text{rat}/\text{side}$) اسید آسکوربیک ($1922/28 \pm 103/23$) نسبت به گروه کنترل ($1162/28 \pm 114/97$) و اسید آسکوربیک ۱۲ ($1126/42 \pm 120/65$) به صورت بارزی افزایش یافته است ($P < 0.01$) (شکل ۲- A) و نشان دهنده افزایش فعالیت حرکتی است. میانگین سرعت در دوزهای مختلف اسید آسکوربیک تغییر معنی‌داری نکرده است (شکل ۲- B).

حرکتی در نظر گرفته می‌شوند [۱۶]. نیم ساعت پس از تزریق، حیوان را به آرامی و به صورت تصادفی در یکی از چهار گوشه دستگاه قرار داده و اجازه می‌دهیم تا محیط دستگاه را آزادانه به مدت ۵ دقیقه کاوش کند. در طول این مدت، رفتار موش از طریق یک سیستم تعقیب کننده اتوماتیک قابل مشاهده است. بعد از انجام تست، موش‌ها به قفس‌هاشان منتقل شده و کف و دیواره‌های دستگاه هر بار توسط پنبه آغشته به الکل ۷۰٪ برای جلوگیری از اثرات بوی برجای مانده از حیوان قبلی تمییز شده و اجازه داده می‌شود در بین هر تست خشک شود.

بعد از اتمام آزمایش‌ها، سر حیوانات با استفاده از گیوتین جدا شده و مغز موش‌ها پس از خروج از جمجمه و فیکس کردن در محلول فرمالین ۲۰٪، به وسیله دستگاه ویبرواسلایس (WPI Co., USA) برش‌هایی در حد ۱۰۰-۱۵۰ میکرونی از موضع کانول گذاری برای صحت جایگاه مورد نظر تهیه شد. با استفاده رنگ آمیزی نیسل مقاطع مورد نظر رنگ آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به دست آمده از هر حیوان تنها در صورتی جهت تجزیه و تحلیل آماری پذیرفته می‌شد که محل تزریق در هر دو طرف در ناحیه پوسته اکومینس بود در غیر این صورت نتایج حذف و توسط اطلاعات بدست آمده از حیوان جدیدی جایگزین می‌گشت. نتایج با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) توسط نرم افزار SPSS مورد بررسی



A

B

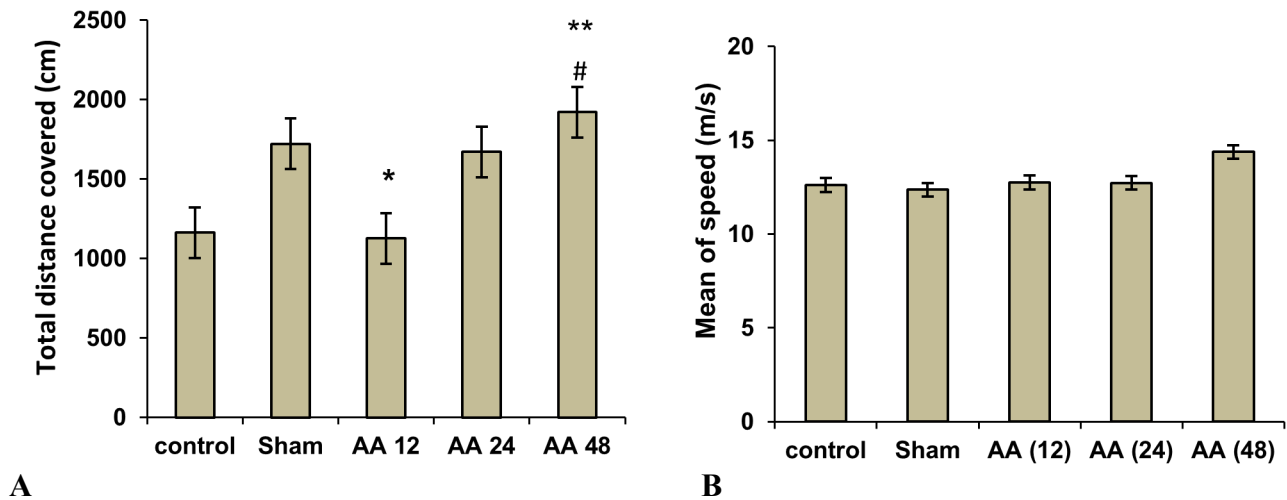
شکل ۱- مقایسه زمان گذرانده شده در مرکز OFT (A) و تعداد ورود به مرکز (B) در دوزهای مختلف اسید آسکوربیک (۴۸ و ۲۴ و ۱۲) با گروه کنترل و شاهد (n=7).

A: * $P < 0.05$, vs control & sham

اسیدآسکوربیک: AA, شاهد: Sham, کنترل: Control

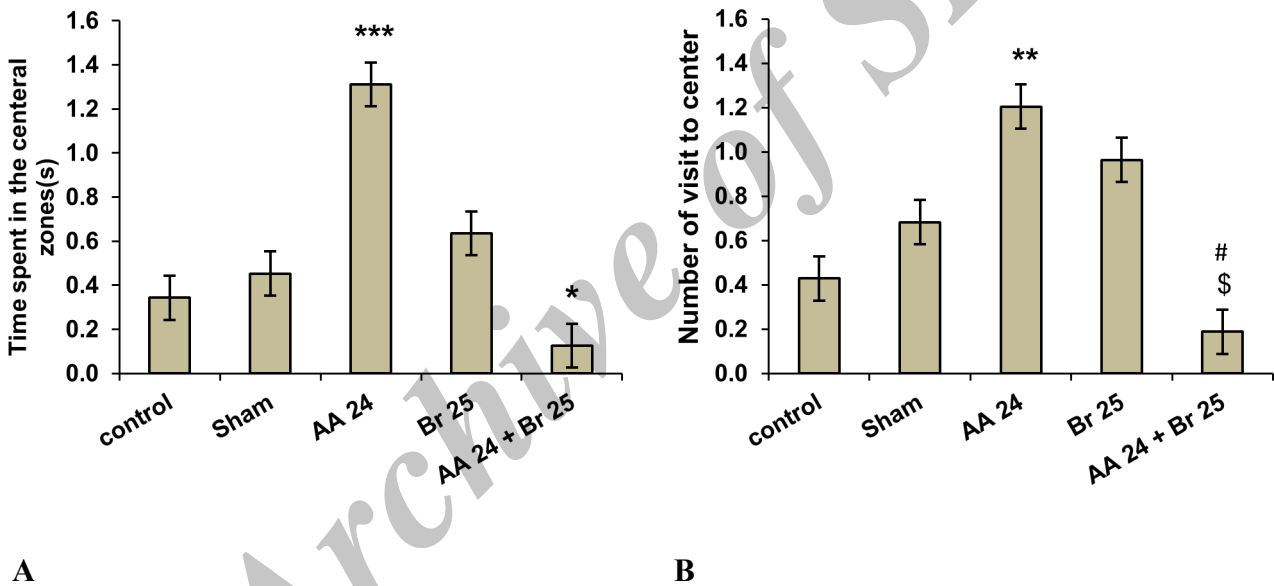
$P < 0.05$, vs AA (12)

B: * $P < 0.05$, vs control



شکل ۲- مقایسه کل مسافت طی شده در OFT (A) و سرعت متوسط (B) در دوزهای مختلف اسید آسکوربیک (۴۸ و ۲۴، ۱۲) با گروه کنترل و شاهد (n=7).
 اسیدآسکوربیک: AA، شاهد: Sham، کنترل: Control

A: **P<0.01, vs control & AA(12)
 *P<0.05, vs sham
 # P<0.01, vs AA (12)

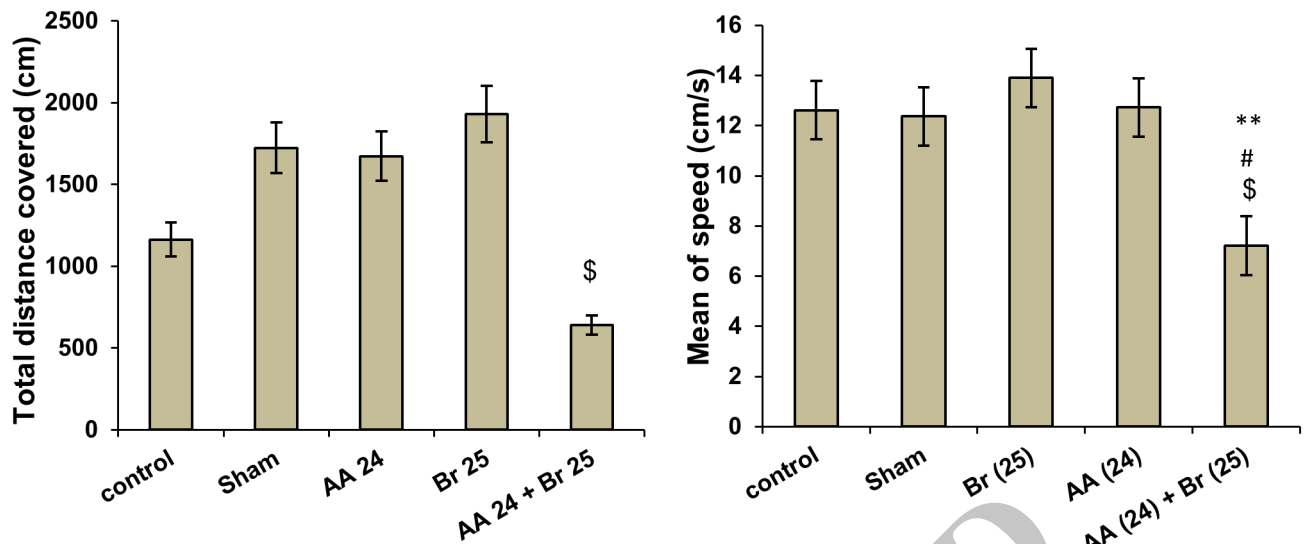


شکل ۳- مقایسه زمان گذرانده شده در مرکز OFT (A) و تعداد ورود به مرکز (B) در گروه‌های مختلف اسید آسکوربیک، برومکریپتین و توأم اسید آسکوربیک- برومکریپتین با گروه کنترل و شاهد (n=7).
 برومکریپتین: Br، اسیدآسکوربیک: AA، شاهد: Sham، کنترل: Control

A: *** P<0.001, vs control & sham & Br 25 & AA(24)+ Br 25
 *P<0.05, vs Br 25
 B: **P<0.01, vs control
 # P<0.05, vs AA(24)
 § P<0.05, vs Br(25)

به گروه اسیدآسکوربیک ۲۴ (۰/۲۰±۰/۲۰) و گروه برومکریپتین ۲۵ (۰/۱۶±۰/۹۶) (P<0.05) (شکل ۳- A) و (B) و همچنین کاهش کل مسافت طی شده نسبت به برومکریپتین ۲۵ (۰/۳۱±۱۹۲۸/۸۵±۳۶۰) (P<0.01) و کاهش سرعت متوسط نسبت به گروه‌های دیگر یعنی گروه کنترل

تزریق توأم اسید آسکوربیک و برومکریپتین (AA (24 µg/rat/side)+Br (25µg/rat/side) در پوسته اکومبیس (۰/۳۵±۰/۷۳)، منجر به کاهش زمان گذرانده شده در مرکز نسبت به گروه دریافت کننده دوز ۲۵ برومکریپتین (۰/۰۸±۰/۶۳) (P<0.05)، کاهش تعداد ورود به مرکز نسبت



A

B

شکل ۴- مقایسه کل مسافت طی شده در OFT (A) و سرعت متوسط (B) در گروه‌های مختلف اسید آسکوربیک، بروموکریپتین و توأم اسید آسکوربیک- بروموکریپتین با گروه کنترل و شاهد (n=7). بروموکریپتین: Br، اسیدآسکوربیک: AA، شاهد: Sham، کنترل: Control

A: [§]P<0.01, vs Br(25)

B: ^{**}P<0.01, vs control&sham

[§]P<0.001, vs Br(25)

[#]P<0.01, vs AA(24)

ادامه کاربرد توأم اسید آسکوربیک و بروموکریپتین منجر به افزایش اضطراب و کاهش فعالیت حرکتی شده است. با توجه به این داده‌ها، نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که اثر تزریق داخل پوسته هسته اکومینس اسید آسکوربیک مانند تزریق ICV منجر به افزایش فعالیت حرکتی می‌شود [۳۹].

همان طور که مشاهده کردیم AA در این پژوهش منجر به کاهش اضطراب و افزایش فعالیت حرکتی شد. در توجیه یافته‌های حاضر در این پژوهش می‌توان گفت اسید آسکوربیک به عنوان یک کوفاکتور در چندین واکنش آنزیمی شامل سنتز کاتکول آمین‌ها و تولید نوراپی نفرین از دوپامین شرکت می‌کند [۱۸]، همچنین آسکوربات به عنوان یک نورومدولاتور در انتقال گابارژیک، گلوتامات ارژیک، دوپامین ارژیک، کولینرژیک و رفتارهای مرتبط با آنها اثر دارد [۱۸]، که همه‌ی نوروترانسمیترهای ذکر شده به نوعی در کنترل رفتارها اضطرابی و حرکتی نقش دارند [۴۴] و مطرح بودن اسید آسکوربیک به عنوان یک نورومدولاتور در کنار این میانجی‌ها می‌تواند عامل بعضی از تأثیرات این ویتامین باشد، البته از آنجا که رهایش اسید آسکوربیک و میزان آن و نیز تأثیر آن وابسته

(۱۲/۷۲±۱/۲) ۲۴ گروه اسید آسکوربیک ۲۴ (۱۲/۶۱±۰/۹۶) و گروه بروموکریپتین ۲۵ (۱۳/۹±۰/۹۲) (P<0.01) شده است (شکل ۴-A و B). (P<0.001)

بحث

در مطالعات قبلی ما نشان دادیم که سیستم دوپامینی هسته اکومینس متأثر از اسیدآسکوربیک می‌باشد [۳] و در تغذیه موش‌های صحرایی نقش دارد. در این مطالعه اثر تزریق داخل پوسته اکومینسی اسید آسکوربیک بر رفتارهای اضطرابی، فعالیت حرکتی و رفتار جست و جوگرانه در موش‌های صحرایی توسط تست میدان باز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که دوز ۱۲ μg/rat/side اسید آسکوربیک اثری روی اضطراب نداشت اما منجر به کاهش کل مسافت طی شده گردید، این در حالی است که دوز ۲۴ μg/rat/side اسید آسکوربیک منجر به افزایش فعالیت حرکتی و کاهش اضطراب شده اما دوز ۴۸ μg/rat/side اسید آسکوربیک به صورت معنی دار منجر به کاهش اضطراب و افزایش فعالیت حرکتی نسبت به گروه کنترل شده است. در

مجموعه رفتارهای ناشی از آن را نیز دارد [۳۱]. مشخص شده است که تزریق آگونیست‌های گیرنده‌های گلوتاماتی AMPA/kainate در هسته آکومبنس، فعالیت حرکتی را تحریک می‌کند، در حالی که تجویز آنتاگونیست‌های رقابتی گیرنده‌های NMDA مانند AP5 موجب کاهش فعالیت حرکتی می‌شوند [۹]. تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که اسید آسکوربیک ممکن است با آنتاگونیزه کردن گیرنده‌های NMDA موجب کاهش آزادسازی دوپامین گردد [۴].

از آنجا که سیستم کولینرژیک نیز در ره‌ایش اسید آسکوربیک دخیل است [۱۷] و اسید آسکوربیک و سیستم کولینرژیک متأثر از یکدیگر هستند و اسید آسکوربیک به عنوان یک نورومدولاتور روی سیستم کولینرژیک مؤثر است [۱۸]، در نتیجه احتمال اینکه بخشی از اثر اسید آسکوربیک از طریق این مسیر میانجی‌گری شود نیز هست.

سیستم سروتونرژیک نیز از سیستم‌های مؤثر در تنظیم حرکت و اضطراب است و از طرفی سروتونین نیز موجب ره‌ایی مرکزی آسکوربات می‌شود [۱۳]، بنابراین می‌توان گفت اسید آسکوربیک می‌تواند از طریق رابطه‌ی نورومدولاتوری که با سیستم سروتونرژیک دارد در فعالیت حرکتی و اضطراب نقش داشته باشد. در همین خصوص مشخص شده است که پیش‌درمانی با آنتاگونیست گیرنده سروتونین از اثر اسید آسکوربیک در کاهش زمان بی‌حرکتی جلوگیری می‌کند [۳۹]. سیستم گابا آرژیک نیز از سیستم‌های مؤثر در تنظیم حرکت و اضطراب است. گمان می‌رود بیش‌فعالی ناشی از دوپامین در هسته آکومبنس، به واسطه اثر مهاری آن روی نورون‌های گابا آرژیک ارسال شده به پالیدیوم شکمی باشد، به طوری که ره‌ایی گابا به دنبال فعال شدن گیرنده‌های دوپامین در NAcc کاهش یافته است [۱۹]. اسید آسکوربیک نیز به عنوان یک نورومدولاتور در انتقال گابا آرژیک عمل می‌کند [۱۸]، بنابراین اسید آسکوربیک ممکن است از طریق سیستم گابا آرژیک بر فعالیت حرکتی و اضطراب مؤثر باشد.

موضوع دیگر و شاید عمومی‌تر در خصوص اسید آسکوربیک، داشتن اثر آنتی‌اکسیدانی است، اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان خوب از سلول‌های عصبی محافظت کرده و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی را کاهش می‌دهد [۱۲]، و وجود این اثر عمومی اسید آسکوربیک نیز در خصوص

به ناحیه در مغز می‌باشد و به عبارتی در همه نواحی به یک اندازه اثر ندارد و غلظت آن در همه نواحی یکسان نیست [۳۵] و با توجه به وجود سیستم‌های نوروترانسمیتری چندگانه در هسته آکومبنس، اسید آسکوربیک ممکن است اثر خود را بر فعالیت حرکتی و اضطراب از طریق این سیستم‌ها اعمال کند. اما از آنجا که کاربرد توأم آن با بروموکرپتین توانست از اثرات آن تا حدودی جلوگیری کند، بنابراین به نظر می‌رسد بتوان گفت حداقل گیرنده‌های دوپامینی D_2 در این پدیده دستی بر کار دارند.

همان‌طور که گفته شد ره‌ایش بسیاری از نوروترانسمیترهای مؤثر در تنظیم فعالیت حرکتی از جمله دوپامین با اسید آسکوربیک همراه است [۱]. ره‌ایش اسید آسکوربیک می‌تواند متابولیسم این نوروترانسمیترها را در موضع رها شده تنظیم و بدین طریق در عملکرد فیزیولوژیک آنها دخالت نماید. یکی از سیستم‌های نوروترانسمیتری تنظیم کننده فعالیت حرکتی و اضطراب، سیستم ایپوئیدی است. از آنجا که این سیستم با آسکوربات تداخل عمل دارد [۱۴] لذا این امکان وجود دارد که بخشی از تأثیرات، از طریق مداخله مستقیم یا غیرمستقیم در عملکرد نوروترانسمیترهای ایپوئیدی آکومبنس اعمال شده باشد. یکی دیگر از سیستم‌های نورونی که حرکت و اضطراب را متأثر می‌کند سیستم گلوتامینرژیکی است. از آنجایی که گیرنده‌های NMDA این سیستم، در هسته آکومبنس وجود دارند [۹] و این گیرنده‌ها در فعالیت حرکتی مؤثرند و همچنین آزادسازی اسید آسکوربیک از سلول‌های مغزی به طور عمده همراه با فعالیت نورون‌های گلوتامینرژیک، خصوصاً از طریق مبادله خلاف جهت آسکوربات-گلوتامات از غشای نورون‌ها یا سلول‌های گلیال می‌باشد [۲۲] و همچنین آگونیست‌های D_1 و D_2 می‌توانند آزاد شدن آسکوربات از پایانه‌های عصبی گلوتامینرژیک را تسهیل نمایند و این اثر می‌تواند توسط آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی مهار شود [۳۱]. به نظر می‌رسد شاید بخشی از اثر اسید آسکوربیک در هسته آکومبنس از طریق مداخله در کار این گیرنده‌ها به اجرا درآمده باشد. در همین خصوص مشخص شده است که اسید آسکوربیک بر گیرنده‌های NMDA و مجموعه رفتارهای ناشی از آن اثر مهاری دارد، در نتیجه توانایی تعدیل انتقال گلوتامینرژیک و

فعالیت حرکتی شده‌اند که تصور می‌شود به دلیل مکانیسم‌های پس‌سیناپسی استریاتال باشد [۳۷]. با توجه به این که AA می‌تواند اتصال آگونیست‌های گیرنده‌های D_1 و D_2 دوپامین را کاهش دهد و نیز سبب کاهش تولید آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP) در سلول‌های دارای گیرنده دوپامینی شود، می‌توان گفت این ویتامین با مهار سیستم دوپامینرژیک همراه است [۴۳].

نتایج برخی بررسی‌ها نشان می‌دهد گلوکوکورتیکوئیدها انتقال دوپامین مزوآکومبسنس را تحریک می‌کنند. افزایش کورتیکواسترون ناشی از دوپامین آکومبسنس اثرات تحریکی بر حرکت دارد. در سطح رفتاری کورتیکواسترون (CORT) فعالیت حرکتی وابسته به دوپامین را القاء می‌کند [۳۶].

برخی مطالعات نشان می‌دهد که بلوک کردن CORT پاسخ دوپامین پوسته هسته آکومبسنس را به مورفین و کوکائین کاهش می‌دهد [۱۰]. آدرنالکتومی همراه با جایگزینی سطوح پایه‌ای گلوکوکورتیکوئیدها از افزایش پاسخ حرکتی به آمفتامین بعد از چندین نمونه از استرس‌ها شامل محرومیت غذایی و جدایی اجتماعی یا انواع مختلف استرس‌های روزانه جلوگیری می‌کند [۲۹].

در این پژوهش تزریق آگونیست گیرنده D_2 درون پوسته آکومبسنس باعث عدم تغییر معنی‌دار در فعالیت حرکتی شده است. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که بروموکریپتین آگونیست بسیار مؤثر بر گیرنده‌های D_2 است که تأثیر اندکی بر گیرنده‌های D_1 نیز دارد. همچنین مشخص شده است دوزهای کم آپومورفین و دیگر آگونیست‌های دوپامین مانند بروموکریپتین تغییرات رفتاری مانند پیش‌فعالی را القاء می‌کند، که با آنچه که دوزهای بالاتر ایجاد می‌کند (مانند رفتارهای کلیشه‌ای و تحریک حرکت) برعکس است [۲۴].

البته گفته شده اثر بروموکریپتین به صورت وابسته به دوز بر فعالیت‌های حرکتی اجرا می‌شود به عنوان مثال بروموکریپتین به صورت وابسته به دوز شبیه آپومورفین فعالیت حرکتی را کاهش می‌دهد. منحنی‌های اثر هر دو ماده U شکل است. که این اثر می‌تواند با استفاده از آنتاگونیست گیرنده D_2 (Sulpride) برعکس شود [۲۴] و ذکر این نکته نیز ضروری است که آگونیست‌های دوپامینی به یک اندازه و به یک نوع گیرنده‌ها را متأثر نمی‌کنند، مثلاً رفتارهای ایجاد شده توسط

عملکرد آن در سیستم عصبی مهم است و مطالعات قبلی نیز این موضوع را تأیید می‌کنند [۱۸]. عوامل استرس اکسیداتیو که گلوتامات خارج سلولی را زیاد می‌کند، رهائش اسید آسکوربیک را از سلول‌ها افزایش می‌دهد تا در حین رهائش، مبادله اسیدآسکوربیک و گلوتامات صورت گیرد و غلظت خارج سلولی آن تنظیم شود [۵].

بررسی‌های اخیر پیشنهاد می‌کند که پوسته هسته آکومبسنس نقش مهمی در رفتارهای دهانی و پردازش اعمال تقویت کننده پاداش ناشی از محرک‌های روانی مانند کوکائین، ایفا می‌کند [۸]. عصب‌گیری دوپامینرژیک قشر و مرکز آکومبسنس دارای اثرات مجزا و حتی متفاوت در پردازش اطلاعات در هسته آکومبسنس دارد [۲۰]. گیرنده‌های دوپامینی D_1 و D_2 روی دندریت و ترمینال‌های پیش‌سیناپسی در پوسته و مرکز آکومبسنس وجود دارند [۴۱]. از این تفاوت‌های در خصوص تعداد گیرنده‌ها و گونه فارماکولوژیکی گیرنده‌ها بین هسته و پوسته وجود دارد [۸]. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تزریق آمفتامین در قشر هسته آکومبسنس اثرات تقویت کننده بر حافظه مرتبط با اشتها دارد و عکس این اثر را زمانی که در مرکز تزریق شود دارد [۲۰] و از طرفی نشان داده شده که آکومبسنس یک سوپسترای آناتومیکی مهم برای تعدیل دوپامینرژیک رفتار حرکتی و اضطراب است، بنابراین گیرنده‌های دوپامین نقش مهمی در تنظیم فعالیت‌های نورونی وابسته به فعالیت حرکتی و اضطراب دارند. نورون‌های دوپامینرژیک از طریق اثر بر گیرنده‌های D_1 و D_2 دوپامین در ایجاد فعالیت حرکتی نقش ایفا می‌کنند و با توجه نقش آنتی دوپامینرژیک اسید آسکوربیک [۴۳] ممکن است اسید آسکوربیک با تأثیر بر این گیرنده‌ها موجب اثر بر فعالیت حرکتی گردد. بررسی‌های متعددی نشان داده است که فعالیت حرکتی توسط داروهای بلوک کننده‌ی دوپامین کاهش یافته است [۲]. گزارش شده است که تزریق دوپامین به هسته آکومبسنس در آغاز کردن پاسخ‌های حرکتی در موش‌های صحرایی که در دستگاه میدان باز قرار گرفته‌اند، نقش دارد [۳۳]. همچنین برخی مطالعات دیگر نشان داده‌اند که تزریق موضعی دوپامین یا آگونیست آن به هسته آکومبسنس، بیش‌فعالی را القاء می‌نماید [۲]. همین‌طور گزارشی وجود دارد که آنتاگونیست‌های شبه D_2 در هسته آکومبسنس منجر به کاهش

تعدیل فعالیت حرکتی شود به نظر می‌رسد فرضیه‌ای را که اسید آسکوربیک فعالیت سیستم دوپامینرژیک را تنظیم می‌کند، همچنین اثر تنظیمی این نوروترانسمیتر بر میزان آزاد شدن اسید آسکوربیک را [۱۱] تأیید می‌کند.

سپاسگزاری

این مقاله با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان اجرا شده است بدین وسیله نگارندگان مراتب قدردانی خود را اعلام می‌دارند.

بروموکرپتین به شدت رفتارهای ایجاد شده توسط دیگر آگونیست‌های دوپامین مانند آمفتامین و آپومورفین نیست، بنابراین بروموکرپتین گیرنده‌های مرکزی دوپامین را به شیوه متفاوتی نسبت به دیگر آگونیست‌های دوپامین مانند آمفتامین و آپومورفین تحریک می‌کند [۲۱].

اثر تداخل مرکزی اسید آسکوربیک با بروموکرپتین در مجموع باعث کاهش فعالیت حرکتی شده است ولی این کاهش نسبت به گروهی که بروموکرپتین را به تنهایی دریافت کرده‌اند متعادل است که نشان می‌دهد که اسید آسکوربیک توانسته اثر افزایشی بروموکرپتین را تضعیف کند و به عنوان یک آنتاگونیست دوپامین عمل کرده [۴۰] و باعث

References

- (Oncorhynchustshawytscha). *Behav Neurosci* 118 (2004) 191-198.
- [1] Alaei H, Esmail M, Pourshanzari A, Ascorbic acid decreases morphine self-administration and withdrawal symptoms in rats. *Phatophysiology* 12 (2005) 103-107.
- [2] Allen A, *Dopamin controls locomotion by modulating the activity of the cholinergic motor neurons in C. Elegance* [dissertation]. Massachusetts Amherst Univ, 2009.
- [3] Badreh F, Abbasnejad M, Derakhshani A, Jonaidi H, Interaction between ascorbic acid and dopamine D₂ receptor in the nucleus accumbens shell in response to feeding. *Int J Biol Chem* 3 (2009) 132-41.
- [4] Braun AR, Chase T, Behavioral effects of chronic exposure to selective D1 and D2 dopamin receptor agonists. *Eur J Pharmacol* 147 (1988) 441-451.
- [5] Castro M, Caprile T, Astuya A, Millán C, Reinicke K, Vera JC, Vásquez O, Aguayo LG, Nualart F, High-affinity sodium-vitamin C co-transporters (SVCT) expression in embryonic mouse neurons. *J Neurochem* 78 (2001) 815-823.
- [6] Choleric E, Thomas AW, Kavaliers M, Prato FS, A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlórdiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neurosci Biobehav Rev* 25 (2001) 235-260.
- [7] Clements S, Carl BS, Evidence That GABA Mediates Dopaminergic and Serotonergic Pathways Associated With Locomotor Activity in Juvenile Chinook Salmon (Oncorhynchustshawytscha). *Behav Neurosci* 118 (2004) 191-198.
- [8] Cools A, Miwa Y, Koshikawa N, Role of dopamine D1 and D2 receptors in the nucleus accumbens in jaw movements of rats: a critical role of the shell. *Eur J Pharmacol* 286 (1995) 41-47.
- [9] David HN, Ansseau M, Abiraini JH, Dopamine-glutamate reciprocal modulation of release and motor responses in the rat caudate-putamen and nucleus accumbens of "intact" animals. *Brain Res Brain Res Rev* 50 (2005) 336-360.
- [10] Der-Avakian A, Bland S, Schmid MJ, Watkins LM, Spencer RL, Maier SF, The role of glucocorticoids in the uncontrollable stress-induced potentiation of nucleus accumbens shell dopamine and conditioned place preference responses to morphine. *Psychoneuroendocrinology* 31 (2006) 653-663.
- [11] Deshnde C, Dahir A, Kulkarni SK, Antagonistic activity of ascorbic acid on dopaminergic modulation apomorphin-induced stereotypic behavior in mice. *Pharmacology* 77 (2006) 38-45.
- [12] Devlin TM, *Text book of biochemistry with clinical correlations*. 3rd ed. New York: John Wiley, 2006, p. 256-258.
- [13] Diploma JR, Digregorio GJ, *Basic pharmacology in medicine*. 3rd ed. MC Graw Hill publishing company, 1990, p. 59-160.
- [14] Dunlap CE, Lesile FM, Effect of ascorbate on the toxicity of morphine in the mice. *Neuropharmacology*

- 24 (1985) 797-804.
- [15] Eun-Yee J, Shim In, Differential DAergic Control of D1 and D2 Receptor Agonist Over Locomotor Activity and GABA Level in the Striatum. *Exp Neurobiol* 20 (2011) 153-157.
- [16] Ferreira HS, Bernardi MM, Conceição IM, Freitas TA, Felicio LF, Open field behavior and intra-nucleus accumbens dopamine release in vivo in virgin and lactating rats. *Psychol Neurosci* 4 (2011) 115-121.
- [17] Gu PF, Wu CF, Yang JY, Shang Y, Hou Y, Bi XL, Dai F. Differential effects of drug – induced ascorbic acid release in the striatum and the nucleus accumbans of freely moving rats. *Neurosci lett* 33 (2006) 79-81.
- [18] Harrison FE, May JM, Vitamin C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter SVCT2. *Free Radic Biol Med* 46 (2009) 719-730.
- [19] Honkanen A, *Modulation of brain dopaminergic neurotransmission in alcohol-preferring rats by alcohol opioids: public criticism in Auditorium 1041 of BiocentreViik* [dissertation]. Helsinki Univ., 1999.
- [20] Ito R, Hayen A, Opposing Roles of Nucleus Accumbens Core and Shell Dopamine in the Modulation of Limbic Information Processing. *J Neurosci* 31 (2011) 6001-6007.
- [21] Johnson AM, Loew DM, Vigouret JM, Stimulant properties of bromocriptin on central dopamine receptors in comparison to apomorphin, (+)-amphetamin and L-DOPA. *Br J Pharmacol* 56 (1976) 59-68.
- [22] Karanth S, Yu WH, Walczewska A, Mastronardi C, McCann SM, Ascorbic acid acts as inhibitory transmitter in the hypothalamus to inhibit stimulate d luteinizing hormone-releasing hormone release by scavenging nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 97 (2000) 1891-1896.
- [23] Kobayashi K, Ikeda Y, Suzuki H, Behavioral destabilization induced by the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine. *Mol Brain* 4 (2011) 1-12.
- [24] Király I, Van Ree JM., None-opiate beta-endorphin fragments and dopamine--VI. Behavioral analysis of the interaction between gamma-type endorphins and dopaminergic systems in the nucleus accumbens of rats. *Neuropharmacology* 5 (1984) 511-516.
- [25] Kim JH, Vezina P, Blockade of glutamate reuptake in the rat nucleus accumbens increases locomotor activity. *Brain Res* 819 (1999) 165-169.
- [26] Kim JH, Vezina P, Activation of Metabotropic Glutamate Receptors in the Rat Nucleus Accumbens Increases Locomotor Activity in a Dopamine-Dependent Manner. *J Pharmacol Exp Ther* 283 (1997) 962-968.
- [27] Lauren KD, Gregory PM, Acetylcholine from the mesopontine tegmental nuclei differentially affects methamphetamine induced locomoto activity and neurotransmitter levels in the mesolimbic pathway. *Behav Brain Res* 226 (2012) 224-234.
- [28] Marczynski C, Pirot-Sinal TS, Kavaliers M, Ossenkopp KP, Sex differences in spontaneous locomotors activity and rotational behavior in Meadow voles. *Physiol Behav* 65 (1998) 378-391.
- [29] Marinelli M, Piazza PV, Interaction between glucocorticoid hormones, stress and psychostimulant drugs. *Eur J Neurosci* 16 (2002) 387-394.
- [30] McNaughton N, Corr PJ, A two-dimensional neuropsychology of defense: fear/anxiety and defensive distance. *Neurosci Biobehav Rev* 28 (2004) 285-305.
- [31] Milanes MV, Martinez JA, Vargas ML, influence of dopaminergic and noradnergic system on the release of opioid peptides in guinea-pig ileum. *J Pharma Pharmacol* 41 (1989) 607-611.
- [32] Miquel M, Aguilar MA, Aragonce M G, Ascorbic Acid Antagonizes Ethanol-Induced Locomotor Activity in the Open-Field. *Pharmacol Biochem Behav* 62 (1999) 361-366.
- [33] Mogenson GJ, Jones DL, Yim CY, Frome motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog Neurobiol* 2/3 (1980) 69-97.
- [34] Moran TH, Smedh U, Kinzig KP, Scott KA, Knipp S, LadenheimEE, Peptide YY (3-36) inhibits gastric emptying and produces acute reductions in food intake in rhesus monkeys. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288 (2005) 384-388.
- [35] Morris BJ, Neuronal localisation of neuropeptide Y gene expression in rat brain. *J Comp Neurol* 290 (1989) 358-368.
- [36] Piazza PV, ougepont F, Deroche V, Maccari S, Simon S, Lemoal M, Glucocorticoids have state-dependent stimulant effects on the mesencephalic dopaminergic transmission. *Proc Natl Acad Sci USA* 93 (1996) 8716-8720.
- [37] Plaznik AR, Stefanski W, Kostowski, Interaction between accumbens D1 and D2 receptors regulating rat

- locomotor activity. *Psychopharmacology* 99 (1989) 558-562.
- [38] Prinssen EPM, Balestra W, Bemelmans FFG, Cools AR, Evidence for a Role of the Shell of the nucleus accumbens in Oral Behavior of Freely Moving Rats. *J Neurosci* 14 (1994) 1555-1562.
- [39] Ricardo W, Binfaré, Angelo OR, Kelly RL, Adair RSS, Rodrigues ALS, Ascorbic acid administration produces an antidepressant-like effect: Evidence for the involvement of monoaminergic neurotransmission. *NeuroPsychopharmacol Biol Psychiat* 33 (2009) 530-540.
- [40] Sahraei H, Aliabadi A, Zarrindast MR, Ghoshooni H, Nasiri A, Barzegari-Sorkheh A, Yari M, Zardooz H, Hossein-Mardi L, Faraji N, Shams J, Ascorbic acid antagonizes nicotine-induced place preference and behavioral sensitization in mice. *Eur J Pharmacol* 560 (2007) 42-48.
- [41] Setlow B, The nucleus accumbens and learning and memory. *J Neurosci Res* 49 (1997) 515-521.
- [42] Sturma V, Lenartz D, Koulousakis A, Treuer KHH, Christian KJ, Klosterkötter J, The nucleus accumbens: a target for deep brain stimulation in obsessive-compulsive and anxiety disorders. *J Chem Neuroanat* 26 (2003) 293-299.
- [43] Tolbert LC, Morris PEJ, Spollen JJ, Ashe SC, Stereo specific effects of ascorbic acid and analogues on D1 and D2 agonist binding. *Life Sci* 51 (1992) 921-930.
- [44] Tou JCL, Wade CE, Determinations Affecting physical activity levels in animal models. *Exp Biol Med* 227 (2002) 587-600.
- [45] Walsh RN, Cummins RA, The open-field test A critical review. *Psychol Bull* 83 (1976) 482-504.
- [46] Liu W, Wu CF, Huang M, Xiao K, 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.

Archive of SID