مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره پانزدهم، شمارهٔ ۴، تیر ۱۳۹۲، صفحه ۱۰۸-۱۰۰

مقایسه اثر تزریق توأم اسید آسکوربیک و آگونیست گیرنده D_2 دوپامین (بروموکریپتین) با آسکوربیک اسید در پوسته هسته اکومبنس بر اضطراب موش های صحرایی نر

ریحانه نادری(MSc)[۱]، مهدی عباس نژاد(PhD)[۱*]

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

دریافت: ۹۱/۸/۱، اصلاح: ۹۱/۱۰/۱۷، پذیرش: ۹۲/۲/۱۱

خلاصه

سابقه و هدف: اسیدآسکوربیک در بیشتر نواحی مغز پستانداران به خصوص هسته اکومبنس یافت می‌شود. مطالعات قبلی نشان داده است که اسیدآسکوربیک موجب کاهش اضطراب می‌شود، به دلیل رابطه اسید آسکوربیک و هسته اکومبنس با اضطراب در این تحقیق نقش تزریق اسیدآسکوربیک، بروموکریپتین و تزریق توأم آنها در پوسته هسته اکومبنس بر اضطراب موش‌های صحرایی نر به وسیله پلاس میز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها: در این مطالعه از ۷۰ سر موش صحرایی نر نژاد Wistar در محدوده وزنی ۲۷۰-۲۲۰ گرم در۱۰ گروه کنترل، اسیدآسکوربیک(۴۸ µg/rat/side و۲۴، ۱۲)، بروموکریپتین (۲۵ µg/rat/side و ۱۲/۵)، اسیدآسکوربیک و بروموکریپتین (۲۵ µg/rat/side و ۲۴) و شم اسیدآسکوربیک، بروموکریپتین، اسیدآسکوربیک و بروموکریپتین استفاده شد. پس از عمل جراحی استریوتاکس و بهبودی، داروها با حجم یک میکرولیتر تزریق شدند. ۳۰ دقیقه پس از تزریق حیوان در پلاس میز قرار گرفته و شاخص‌های اضطراب (درصد زمان سپری شده در بازوی باز و درصد تعداد ورود به بازوی باز) توسط ماز بعلاوه ای شکل مرتفع به مدت ۵ دقیقه ثبت و مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد که تزریق داخل پوسته هسته اکومبنس اسیدآسکوربیک دوز (۲۴µg/rat/side) ۱۵/۴۴±۲۲۳/۲۸، دوز(۴۸µg/rat/side) ۱۲/۵۷±۲۴۸/۷۳ (p<۰/۰۰۱) و بروموکریپتین دوز (۱۲/۵µg/rat/side) ۱۷/۴۵±۲۳۵/۸۷ (p<۰/۰۰۱) و دوز (۲۵ µg/rat/side) ۲۰/۸۹±۱۷۵/۵۷ (p<۰/۰۵) تزریق توأم آن دو ۱۵/۹۹±۲۲۸/۲۴ (p<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل موجب افزایش معنی دار درصد زمان سپری شده در بازوی باز گردید.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که تزریق اسیدآسکوربیک و بروموکریپتین و همچنین تزریق توأم آنها در پوسته هسته اکومبنس موجب کاهش اضطراب شده و بعضی از پارامترهای اضطرابی را به صورت وابسته به دوز و بعضی پارامترهای دیگر را غیر وابسته به دوز کاهش می‌دهند.

واژه های کلیدی: اسید اسکوربیک، هسته اکومبنس، بروموکریپتین، اضطراب، ماز بعلاوه ای شکل مرتفع.

مقدمه

یکی از اختلالات روانی رایج در انسان اضطراب می‌باشد که عبارت از یک احساس منتشر، ناخوشایند و مبهم هراس و دلواپسی با منشأ ناشناخته است، که به فرد دست می‌دهد و شامل عدم اطمینان، درماندگی و برانگیختگی فیزیولوژیک می باشد. اضطراب موجب می‌شود که فرد نسبت به آینده احساس خطر کرده و حس کند که نیرویی درونی و ناخودآگاه مدام به او هشدار می‌دهد. شیوع اضطراب در زنان ۳۰/۵٪ و در مردان ۱۹/۲٪ گزارش شده است (۱). از اضطراب به عنوان اختلال روانی قرن یاد می‌شود (۲). پوسته هسته اکومبنس (NACS) پروجکشن‌های گلوتامینرژیک زیادی از نورون‌های نواحی لیمبیک مانند قشر پیش پیشانی، هیپوتالاموس شکمی و آمیگدال قاعده‌ای جانبی که در پردازش استرسورهای اضطراب آور دخالت دارند، دریافت می‌کند که روی نورون‌های خاردار هسته اکومبنس همگرا می‌شوند. همچنین از نواحی دیگر مغز مانند تیغه جانبی، آمیگدال، هیپوتالاموس جانبی، ناحیه تگمنتال شکمی، هسته رافه پشتی و لوکوس سرئولوس ارتباطاتی را دریافت می‌کند که همگی با محرک‌های پر استرس یا اضطراب مرتبط هستند. این حقیقت که (Nuslcus Accumbens Shell, NACS) مرز بین لیمبیک و سیستم‌های حرکتی است ممکن است نقش قوی آن را در رفتار اضطراب/ترس توضیح دهد (۲). در مغز، عمدتا تجمع اسید آسکوربیک در قشر هسته آکومبنس، هیپوتالاموس، هیپوکامپ و شبکه کرویید است. اسید آسکوربیک در مغز پستانداران سنتز نمی‌شود (۳)، این ترکیب بواسطه مکانیسم انتقال فعال و انتشار در شبکه کوروئید جذب و توسط کوترانسپورتر اسکوربات- سدیم (SVCT2) که در سلول‌های نوروایی

▣ این مقاله حاصل پایان ریحانه نادری دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دانشگاه شهید باهنر کرمان می باشد.

* مسئول مقاله:
آدرس: کرمان، دانشگاه شهید باهنر، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، تلفن: ۳۲۲۲۰۳۲-۰۳۴۱
e-mail:mabbas@mail.uk.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.4.14.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.4.100]

تلیال شبکه کوروئید حضور دارد به مغز و نورون‌ها انتقال می‌یابد (۴). اسید آسکوربیک علاوه بر نقش کوفاکتوری و آنتی اکسیدانی‌اش، به عنوان یک نورومدولاتور در سیستم عصبی مرکزی نیز معرفی شده است (۵)، این نقش در انتقال گاباارژیک، گلوتاماترژیک، دوپامینرژیک، کولینرژیک و رفتارهای مرتبط با آنها به اثبات رسیده است (۳). مطالعات نشان می‌دهند که سیستم‌های عصبی مختلف مانند سیستم گلوتامینرژیک، دوپامینرژیک، کولینرژیک و سروتونرژیک می‌توانند در رهایش اسید آسکوربیک دخیل باشند (۶).

آگونیست‌های دوپامین میزان آسکوربات خارج سلولی را در جسم مخطط و هسته آکومبنس افزایش می‌دهند. این نتایج نشان می‌دهد که سطح آسکوربات خارج سلولی را می‌توان به کمک سیستم عصبی دوپامینرژیک تنظیم کرد البته این تنظیم در نقاط مختلف مغز یکسان نمی‌باشد (۷).

مطالعات حاکی از آن است که رهایش دوپامین از انتهای نورون‌های دوپامینرژیک با اسید آسکوربیک همراه است و اسید آسکوربیک رها شده می‌تواند اثرات دوپامین را تنظیم کند، همچنین این نوروترانسمیتر میزان آزاد شدن اسید آسکوربیک را تنظیم می‌کند (۸). چندین بررسی نشان داده اند که این ویتامین به عنوان یک آنتاگونیست دوپامین در مغز عمل می‌کند و آزاد شدن دوپامین درون هسته اکومبنس را کاهش می‌دهد (۹). اسید آسکوربیک همچنین یک فاکتور مهم برای سنتز دوپامین بشمار می‌رود (۱۰).

در خصوص ارتباط اسید آسکوربیک و دوپامین مشخص شده که در استریاتوم و هسته اکومبنس سطح خارج سلولی اسید آسکوربیک را می‌توان به کمک سیستم عصبی دوپامینی تنظیم کرد. بنابراین یک رابطه تنگاتنگ بین این دو وجود دارد. این ویتامین با غلظت کم، آگونیست سیستم دوپامینرژیک و گلوتامینرژیک است و با غلظت زیاد اثر آنتاگونیستی بر نوروترانسمیترهای مذکور دارد (۸). نتایج به دست آمده از یک تحقیق نشان داده که اسید آسکوربیک می تواند اثرات اضطراب زایی سر و صدا را در موشهای خانگی(تست میدان باز) کاهش دهد (۱۱).

ویتامین C برای داشتن احساس خوب روحی و روانی نیاز است، فقدان یا کمبود این ویتامین ممکن است موجب افسردگی، زودرنجی، اختلالات قلبی، اضطراب و خستگی شود. اضطراب و هیجان موجب افزایش از بین رفتن اسید آسکوربیک می‌شود. افسردگی و اضطراب احتمالاً توسط جذب ناکافی اسید آسکوربیک تشدید می‌شوند. ویتامین C یک ویتامین ضد استرس است و ممکن است با آدرنالین مخالفت کند (۱۲).

مطالعات متعددی دخالت استرس اکسیداتیو را در اضطراب نشان داده اند، مصرف زیاد قند اکسیداسیون پروتئین را در قشر پیشانی افزایش می‌دهد و رفتار شبه اضطراب را در موش‌های صحرایی ایجاد می‌کند. همچنین مشخص شده که افزایش رفتار شبه اضطراب به صورت مثبت با افزایش گونه های اکسیژن واکنشی (Reactive oxygen Species, ROS) در گرانولوسیت‌ها مرتبط است. مطالعه بیشتر نشان داده است که در تست میدان باز استرس اکسیداتیو در هیپوکمپ اضطراب زا می‌باشد و فعالیت حرکتی و اکتشافی نیز کاهش یافته است. همچنین افزایش رفتار شبه اضطراب به وسیله آنتی اکسیدان tempol معکوس می‌شود، بنابراین دخالت مستقیم استرس اکسیداتیو را در وساطت کردن رفتار شبه اضطراب موش‌های صحرایی نشان می‌دهد (۱۳). تحقیقات نشان داده که ممکن است اسید آسکوربیک برای درمان بیماری آلزایمر و بیماری‌های دیگر تخریب کننده عصبی ناشی از استرس اکسیداتیو مفید باشد. اسید آسکوربیک سطح مالوندی آلدئید (Malondial dehyde, MDA) را در حیواناتی که به صورت تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین (STZ) دریافت کرده‌اند، کاهش میدهد و از آنجاییکه دوز ۲۰۰mg/kg وزن بدن نسبت به دوز ۵۰ mg/kg وزن بدن سطح MDA را بیشتر کاهش می‌دهد در نتیجه ظاهراً این عمل به صورت وابسته به دوز است (۱۴). از آنجاییکه استرس اکسیداتیو با اضطراب مرتبط است بنابراین مخلوطی از آنتی اکسیدان‌ها و مواد کاهنده اضطراب می‌تواند برای درمان اضطراب مفید باشد. مطالعات نشان داده که ویتامین C در خصوص اثر ضد اضطرابی و ضد افسردگی با ضد افسردگی‌ها و ضد اضطرابی‌ها در دوز پایین آنها اثر سینرژیستیک دارد (۱۵).

باتوجه به مقدمه ذکر شده در خصوص اثرات ویتامین C بر استرس و رابطه آن با دوپامین و نیز وجود گیرنده‌های دوپامینی D_2 و اسید آسکوربیک در هسته اکومبنس به عنوان یک ناحیه مغزی که در تنظیم اضطراب نقش دارد و نبودن تقریباً هیچگونه تحقیقی در این خصوص هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر تزریق توام آسکوربیک اسید و آگونیست گیرنده D_2 (بروموکریپتین) در پوسته هسته اکومبنس بر اضطراب موش های صحرایی نر می باشد.

مواد و روشها

حیوانات: در این پژوهش، تعداد ۷۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد Wistar، در گروه‌های ۷ تایی با میانگین وزنی ۲۷۰-۲۲۰ گرم استفاده شد، موش‌ها از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه شهید باهنر تهیه شدند. حیوانات در قفس‌های مخصوص در شرایط ۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی در دمای (۲±۲۳) درجه سانتیگراد در حیوانخانه، بدون محدودیت در مصرف غذا و آب نگهداری شدند. غذای حیوانات از کارخانه خوراک دام و طیور جوانه خراسان تهیه و به صورت پلیت‌های فشرده در اختیار موش‌ها قرار داده شد.

روش جراحی و کانول گذاری: حیوانات توسط تزریق درون صفاقی مخلوط کتامین- گزیلازین (کتامین ۶۰mg/kg وگزیلازین ۴ mg/kg) بیهوش شدند. بعد از بیهوشی سر حیوان در دستگاه استریوتاکس تک بازویی تثبیت شد. پوسته هسته اکومبنس به صورت دو طرفه با استفاده از سر سوزن شماره ۲۲ به عنوان کانول راهنما بر طبق اطلس پاکسینوس- واتسون (۱۶) با مختصات (DV=۵/۶، ML=±۰/۸، AP=۱/۷) کانول گذاری شد.کانول ها توسط سیمان دندان پزشکی و پیچ های عینک بر روی جمجمه ثابت شده و برای جلوگیری از گرفتگی آنها از دربند فلزی استفاده شد.

تزریق دارو: تزریق دارو و آزمایش پس از دوره بهبودی یک هفته ای صورت گرفت. تزریق به کمک تکنیک پیش راندن حباب و با استفاده از سرنگ هامیلتون و لوله پلی اتیلن شماره ۱۰ و به طول ۲۰ سانتیمتر و سر سوزن شماره ۲۷ دندان پزشکی انجام شد. در هر کانول یک میکرولیتر دارو به مدت یک دقیقه تزریق شد.

تست رفتاری (Elevated plus maze): برای سنجش اضطراب از مدل رفتاری ماز بعلاوه ای شکل مرتفع (Elevated plus maze) (EPM) استفاده شد. این تست در ابتدا توسط pillow & file در سال ۱۹۸۶ میلادی معرفی شد (۱۷). این ابزار یک ماز چوبی به شکل بعلاوه (+) می باشد که شامل دو بازوی باز و دو بازوی بسته به ابعاد (۵۰ سانتیمتر) رو به روی هم می باشد و در

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.4.14.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.4.100]

محل تلاقی چهار بازو یک مربع به ابعاد (۱۰*۱۰ سانتیمتر) ایجاد می شود. دو طرف و انتهای بازوی های بسته دیواره بلندی قرار دارد و برای جلوگیری از افتادن موش ها در دو طرف و انتهای بازوهای باز لبه شیشه ای به ارتفاع یک سانتی متر نصب گردید. این ماز توسط چهار پایه در ارتفاع ۵۰ سانتی متر از سطح زمین قرار گرفته است. در مرکز ماز در ارتفاع ۱/۵ متری یک لامپ قرمز ۱۰۰ واتی جهت روشن کردن بازوها تعبیه شده است. هر رت در مرکز ماز و رو به بازوی باز قرار داده شد و به حیوان اجازه داده شد تا آزادانه به مدت پنج دقیقه در ماز حرکت کند. در این مدت فاکتورهای اضطرابی حیوان به وسیله نرم افزار ماز روتر ثبت گردید. در پایان هر تست دستگاه توسط پنبه و الکل تمیز می‌گردد. در این دستگاه ۱) درصد زمان سپری شده در بازوی باز ۲) درصد زمان سپری شده در بازوی بسته ۳) درصد تعداد ورود به بازوی باز ۴) درصد تعداد ورود به بازوی بسته، ثبت می شود. افزایش هر یک از دو فاکتور درصد زمان سپری شده در بازوی باز و درصد تعداد ورود به بازوی باز نشان دهنده کاهش اضطراب می باشد.

گروه های مورد آزمایش: موش های صحرایی به ۱۰ گروه هفت تایی شامل: گروه کنترل (بدون جراحی)، گروه شاهد اسید آسکوربیک (دریافت کننده نرمال سالین به عنوان حلال اسید آسکوربیک)، گروه‌های دریافت کننده دوزهای (µg/rat/side ۴۸ و ۲۴، ۱۲) اسید آسکوربیک، گروه شاهد بروموکریپتین (دریافت کننده حلال بروموکریپتین)، گروه‌های دریافت کننده دوزهای (µg/rat/side ۲۵ و ۱۲/۵) بروموکریپتین، گروه شم توأم اسیدآسکوربیک و بروموکریپتین گروه توأم اسیدآسکوربیک و بروموکریپتین(µg/rat/side ۲۵ و ۲۴) تقسیم شدند.

محاسبات آماری: برای مقایسه داده ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One- Way ANOVA) و سپس آزمون Tukey استفاده شد و $p<0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

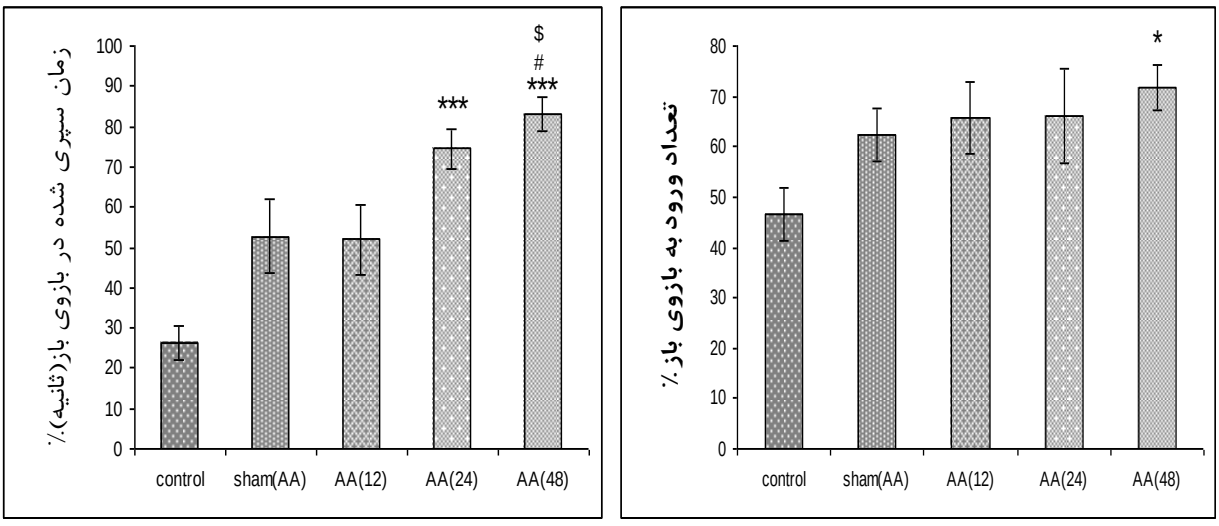
یافته ها

اثر تزریق مرکزی اسید آسکوربیک بر اضطراب: تزریق داخل پوسته هسته اکومبنس دوز (۲۴µg/rat/side) ۱۵/۴۴±۲۲۳/۲۸ ثانیه، اسیدآسکوربیک، دوز (۴۸µg/rat/side) ۱۲/۵۷±۲۴۸/۷۳ ثانیه ($p<0.001$) در مقایسه با گروه کنترل موجب افزایش معنی دار فاکتور درصد زمان سپری شده در بازوی باز (نمودار ۱- الف) گردید. تزریق داخل پوسته هسته اکومبنس دوز (۴۸µg/rat/side) ۴/۲±۸۲/۹۶ ($p<0.05$) در مقایسه با گروه کنترل موجب افزایش معنی دار فاکتور درصد تعداد ورود به بازوی باز (نمودار ۱- ب) گردید.

اثر تزریق مرکزی بروموکریپتین بر اضطراب: تزریق داخل پوسته هسته اکومبنس بروموکریپتین دوز (۱۲/۵µg/rat/side) ۱۷/۴۵±۲۳۵/۸۷ ثانیه ($p<0.001$) و دوز (۲۵ µg/rat/side) ۲۰/۸۹±۱۷۵/۵۷ ثانیه ($p<0.05$) در مقایسه با گروه کنترل موجب افزایش معنی دار فاکتور درصد زمان سپری شده در بازوی باز (نمودار ۲- الف) گردید. تزریق داخل پوسته هسته اکومبنس بروموکریپتین در دوز (۱۲/۵µg/rat/side) ۵/۸۱±۷۸/۷۲ ($p<0.001$) در مقایسه با گروه کنترل درصد تعداد ورود به بازوی باز (نمودار ۲- ب) گردید.

اثر تداخل مرکزی اسید آسکوربیک و بروموکریپتین بر اضطراب: تزریق توأم اسید آسکوربیک و بروموکریپتین داخل پوسته هسته اکومبنس موجب افزایش معنی دار فاکتور درصد زمان سپری شده در بازوی باز ۱۵/۹۹±۲۲۸/۲۴ ثانیه ($p<0.001$) در مقایسه با گروه کنترل (نمودار ۳- الف) گردید. ولی روی فاکتور درصد تعداد ورود به بازوی باز (نمودار ۳- ب) بی اثر بود.

الف ب



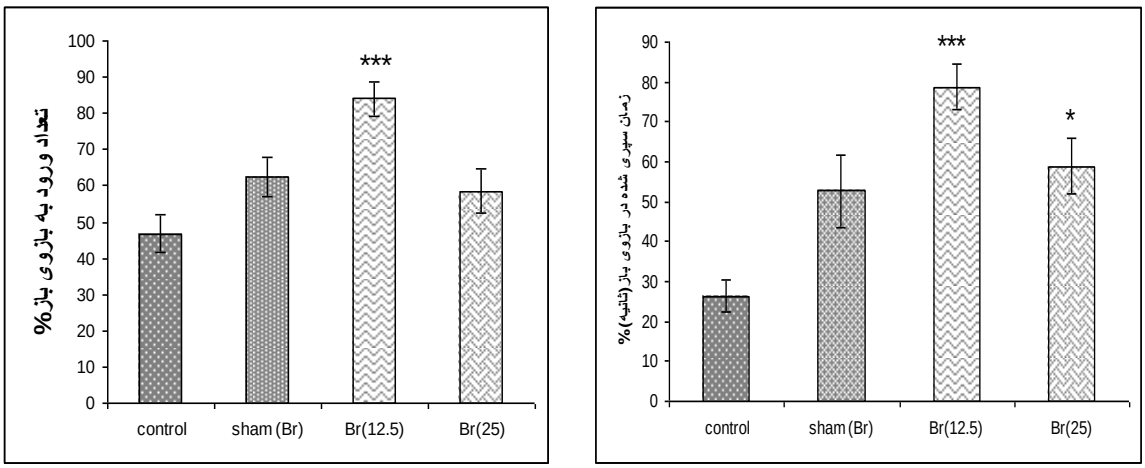
نمودار ۱. مقایسه اثر تزریق دوزهای متفاوت اسید آسکوربیک (µg/rat/side ۴۸ و ۲۴، ۱۲) در پوسته هسته اکومبنس بر درصد زمان سپری شده در بازوی باز (الف) و درصد تعداد ورود به بازوی باز (ب) با گروه کنترل و شاهد (n=۷) AA=ascorbic acid .

a) $^{\#}P<0.05$ vs sham , $^{\$}P<0.05$ vs AA(12) $^{***}P<0.001$ vs control

b) $^{*}P<0.05$ vs control

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.4.14.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.4.100]

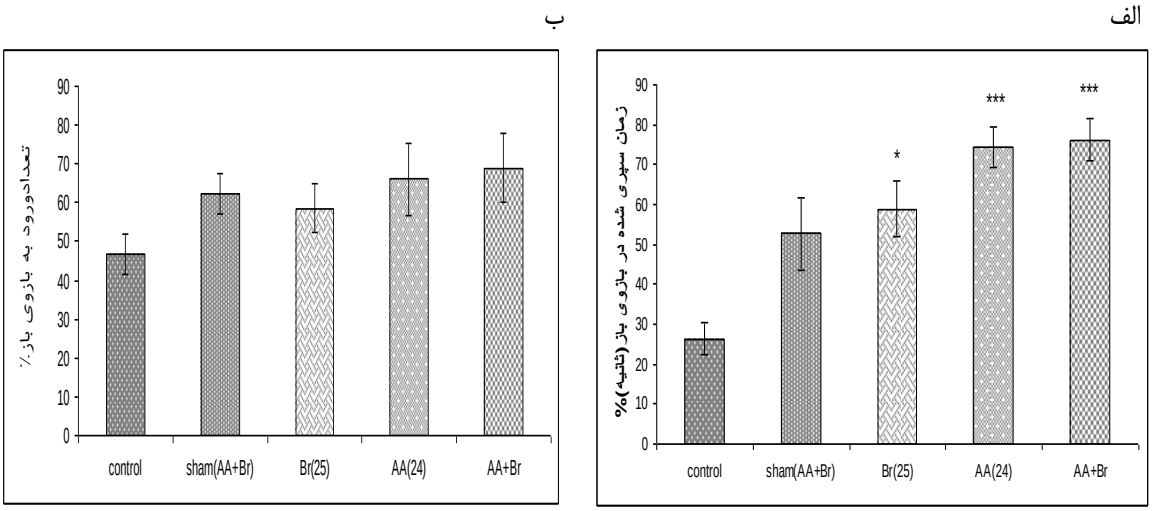
الف ب



نمودار ۲. مقایسه اثر تزریق دوزهای متفاوت بروموکریپتین (۲۵ µg/rat/side و ۱۲/۵) در پوسته هسته اکومبنس بر درصد زمان سپری شده در بازوی باز (الف) و درصد تعداد ورود به بازوی باز (ب) با گروه کنترل و شاهد (n=۷) AA=ascorbic acid.

a) $^{*}P<0.05$ vs control، $^{***}P<0.001$ vs control b) $^{***}p<0.001$ vs control

الف ب



نمودار ۳. مقایسه اثر تزریق توأم اسید آسکوربیک و بروموکریپتین در پوسته هسته اکومبنس بر درصد زمان سپری شده در بازوی باز و درصد تعداد ورود به بازوی باز با گروه کنترل و شاهد (n=۷) Bromocriptin= Br ,AA=ascorbic acid.

a) $^{*}P<0.05$ vs control ، $^{***}P<0.001$ vs control

بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق اسید آسکوربیک در پوسته هسته اکومبنس منجر به کاهش فعالیت اضطرابی گردید و همچنین مشخص شد که حداقل با دوزهای به کار رفته در این تحقیق موضوعی که قبلاً در خصوص اثرات آنتاگونیستی اسید آسکوربیک بر گیرنده های D_2 (۹) در این ناحیه منتفی است. نتایج نشان می‌دهد بروموکریپتین در پوسته هسته اکومبنس باعث کاهش اضطراب شد و اسید آسکوربیک نیز همینطور و تزریق توأم آنها باعث نشد که اسید آسکوربیک بتواند در اثر بروموکریپتین تأثیر معنی داری اعمال کند و در واقع می‌توان گفت اسید آسکوربیک اثر بروموکریپتین را تقویت کرده بنابراین پاسخ داده شده در موارد و پارامترهای سنجیده شده در گروه توأم به سطح گروه اسید آسکوربیک رسیده است، در نتیجه قطعاً در این مورد اسید آسکوربیک به عنوان آنتاگونیست گیرندههای D2 عمل نکرده است. در خصوص توجیه اثرات ضد اضطرابی ویتامین C دو دلیل می‌توان ذکر کرد یکی اثر ضد استرس اکسیداتیوی آن و دیگری اثرات غیر مرتبط با استرس اکسیداتیو، که نقش نورومدولاتوری (۱۸) و یا آنزیمی (۱۹) در تنظیم رهایش و عملکرد نوروترانسمیترهایی مانند دوپامین، سرتونین، استیل کولین، گابا و گلوتامات می‌باشد. مطالعه دیگری نشان داده که تجویز درون بطنی- مغزی داروی سولپیراید به عنوان آنتاگونیست انتخابی گیرنده

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.4.14.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.4.100]

D2 در دوزهای (۲۰ و ۵ میکروگرم) باعث اضطراب در مدل EPM در موش-های صحرایی شده است، همچنین تجویز درون بطنی- مغزی بروموکریپتین به عنوان آگونیست انتخابی گیرنده D2 در دوزهای (۹۵ و ۶۵ میکروگرم) در موش-های صحرایی تست شده در EPM اضطراب ایجاد کرد (۲۰).

مطالعات قبلی نشان داده اند که اسید آسکوربیک در هسته اکومبنس بر اعمال تغذیه ای (۱۶)، حافظه و یادگیری (۲۲) اثر داشته اما تا به حال مطالعه ای صورت نگرفته است, اما مطالعات تأیید کننده اثر داشتن اسید آسکوربیک و D_2 و تزریق توأم آن دو بر فاکتورهای مورد ارزیابی بوده, که نتیجه تحقیق ما نشان می دهد به مجموع اعمالی که اسید اسکوربیک و D_2 هر دو و نیز به تنهایی در هسته اکومبنس در آن دخیل هستند بایستی فعالیت اضطرابی را نیز افزود. مطالعات نشان داده اند که تجویز اسیدآسکوربیک (۳۰۰۰ mg/day) به مدت ۱۴ روز در انسانها موجب کاهش فشار خون، استرس درونی، پاسخ اضطراب در برابر استرسور فیزیولوژیکی و همچنین بهبودی سریع‌تر کورتیزول بزاقی پس از استرسور می‌شود، این اثرات حفاظتی ممکن است وابسته به ویژگی‌های نورومدولاتوری این ویتامین باشد (۲۳). همچنین گزارش شده است که مصرف ویتامین C (در آب نوشیدنی به مدت ۳ ماه) موجب کاهش اضطراب در موش‌های صحرایی بالغ شده است (۲۳). شواهد ذکر شده با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

یکی از نوروترانسمیترهایی که مشخص شده از پایانه‌های نورون‌های دوپامینرژیکی آزاد می‌شود اسید آسکوربیک است (۸) و اسید آسکوربیک آزاد شده نیز می‌تواند متابولیسم دوپامین را در موضع رها شده تنظیم و بدین طریق در عملکرد فیزیولوژیک آن دخالت خواهد کرد. در همین رابطه مشخص شده گیرنده-های دوپامینی D1 و D2 روی دندریت و ترمینال های پیش سیناپسی در پوسته و مرکز اکومبنس وجود دارند (۲۴). از طرفی مطالعات قبلی نشان داده است که رسپتورهای D1 و D2 های دوپامینی هر دو در میانجیگری اضطراب نقش دارند (۲۵). با توجه به ارتباط دوپامین با سایر نوروترانسمیترها از جمله سروتونین، گابا، استیل کولین و گلوتامات (۲۶) و نیز دخالت آنها در تنظیم رفتار اضطرابی، ذکر این نکته نیز لازم است که شاید اثر ضد اضطرابی آگونیست های D2 در پوسته هسته اکومبنس مربوط به وجود این ارتباطات باشد. نوروترانسمیتر دیگری که در کنترل رفتار اضطرابی نقش دارد و اسید آسکوربیک می‌تواند در کار آن مداخله کند و رهایش آن دو به نوعی می‌تواند از یکدیگر متأثر باشد، سروتونین است.

نورون‌های سروتونرژیک منشأ گرفته از هسته رافه ورودی زیادی را به ساختارهای کورتیکولیمبیک درگیر در کنترل حالات اضطراب می‌فرستند (۲۷). به نظر می رسد که سروتونین در هسته اکومبنس درگیر در اضطراب و اثرات کاهندگی اضطراب می‌باشد (۲۸). اسید اسکوربیک ممکن است سطح سروتونین مغز را طبیعی کند که در برخی از اشکال اضطراب دخالت دارد زیرا وقتی با مهارگران بازجذب مجدد سروتونین درمان می‌شوند، اضطراب کاهش می‌یابد (۲۳). همچنین اسید آسکوربیک برای تبدیل اسید آمینه تریپتوفان به سروتونین لازم است. از طرف دیگر سروتونین موجب رهایش مرکزی اسید آسکوربیک می‌شود (۱۸) و اثر مهاری روی عملکرد گیرنده N-متیل دی آسپارتات(NMDA) دارد (۲۹) در نتیجه می‌تواند از این طریق موجب کاهش اضطراب شود.

مطالعات نشان داده است که رهایش و جذب اسید آسکوربیک به نوعی با گیرنده‌های گلوتاماتی وابسته است و نقش مدولاتوری (۳) اسید آسکوربیک در سیستم گلوتامینرژیک نیز وجود دارد. در همین رابطه تحقیقات قبلی نشان داده است گلوتامات در ایجاد اضطراب نقش مهمی ایفا می‌کند و گزارش شده که آنتاگونیست گیرنده NMDA اضطراب را در رت ها و موش ها در روشی مشابه بنزودیازپین ها کاهش می‌دهد، این عمل ممکن است منجر به کاهش اضطراب شود (۲۳). از آنجایی که پوسته هسته اکومبنس پروجکشن‌های گلوتامینرژیک عمده‌ای از نواحی لیمبیک مانند آمیگدال و قشر پیش پیشانی دریافت می‌کند که در پردازش کردن استرسورهای اضطراب آور دخالت دارند (۲)، شاید بخشی از اثر اسید آسکوربیک در این ناحیه از طریق مداخله با این سیستم به وجود آمده باشد. در همین خصوص مشخص شده که آسکوربات بر گیرنده NMDA و مجموعه رفتارهای ناشی از آن نیز اثر مهاری دارد، در نتیجه توانایی تعدیل انتقال گلوتامینرژیک و مجموعه رفتارهای ناشی از آن را نیز دارد (۱۸).

میانجی دیگری که در کنترل رفتار اضطرابی نقش دارد و عملکرد آن به اثرات اسید آسکوربیک وابسته است گابا می‌باشد. GABA فایرینگ سلول های مغز را کاهش می‌دهد، در نتیجه پیغام های وابسته به اضطراب را از قشر کاهش می‌دهد. اما اگر فرد تحت استرس طولانی یا اضطراب باشد مغز همه GABA موجود را مصرف می‌کند در نتیجه باعث ایجاد اضطراب در فرد می‌شود (۳۰). بنابراین مسیرهای گاباارژیک همچنین اثر مهاری روی رهایش بسیاری از نوروترانسمیترهای دیگر که اعمال اضطراب زایی را وساطت می‌کنند، دارند. از آنجایی که اسید آسکوربیک به عنوان یک نورومدولاتور در انتقال گاباارژیک عمل می‌کند (۳) در نتیجه می‌تواند اثر کاهندگی اضطراب خود را از این طریق اعمال کرده باشد.

مطالعات اخیر نشان داده است که داروهای اعتیاد آور در جسم مخطط و هسته اکومبنس رهایش اسید آسکوربیک را القاء می‌کنند و همچنین مورفین می‌تواند غلظت خارج سلولی اسید آسکوربیک را افزایش دهد (۳۱). سیستم اپیوئیدرژیک در هیپوکمپ شکمی و هسته اکومبنس درگیر در رفتارهای وابسته به اضطراب می‌باشد (۳۲). مطالعات نشان داده که در تست EPM تجویز صفاقی، زیر جلدی، داخل وریدی و داخل بطنی مغزی آگونیست‌های اپیوئید فعالیت در بازوهای بسته را به طور قابل توجهی کاهش می‌دهد اما فعالیت اکتشافی را افزایش می‌دهد، که به معنی کاهش اضطراب می‌باشد. برعکس تجویز آنتاگونیست‌های اپیوئید مانند نالوکسون این اثر را مهار می‌کند (۳۳).

مطالعات نشان داده است که اسید آسکوربیک و سیستم کولینرژیک متأثر از یکدیگر هستند و اسید آسکوربیک به عنوان یک نورومدولاتور روی سیستم کولینرژیک اثر دارد (۳). در برخی از مطالعات تزریق محیطی و مرکزی نیکوتین در حیوانات آزمایشگاهی باعث کاهش میزان اضطراب شده است (۳۴) همچنین مشخص شده است که نیکوتین باعث افزایش ترشح اسید آسکوربیک در هسته اکومبنس، دم دار و پوتامن می‌شود (۳۵). با توجه به این مشاهدات اسید آسکوربیک ممکن است اثر کاهشی خود را بر اضطراب از طریق سیستم کولینرژیک اعمال کرده باشد. مطالعات حیوانی نشان می‌دهد که اسید آسکوربیک رهایش کورتیزول ناشی از استرس را کاهش می‌دهد در نتیجه ممکن است در برخی از گونه‌ها اثرات کاهندگی اضطراب اسید آسکوربیک ناشی از اثرات دیگر آن مانند توانایی کاهش سطوح هورمون کورتیزول باشد (۲۳).

علت دیگری که میتوان به نقش اسید آسکوربیک در کاهش اضطراب نسبت داد اثر آنتی اکسیدانی آن می‌باشد. همانطور که گفته شد اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی اکسیدان از سلول‌های عصبی محافظت کرده و پراکسیداسیون

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.4.14.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.4.100]

لیپیدهای غشایی را کاهش می‌دهد (۳۶)، مطالعات متعددی دخالت استرس اکسیداتیو را در اضطراب نشان داده است (۱۳). وجود این اثر اسید آسکوربیک در خصوص عملکرد آنتی اکسیدانی در سیستم عصبی مهم می‌باشد، مطالعات قبلی نیز این موضوع را تأیید می‌کنند (۳). مطالعات قبلی نشان داده اند که ویژگی های آنتی اکسیدانی ویتامین C به دلیل تعدیل استرس اکسیداتیو ناشی از بی تحرکی در مغز موش‌های صحرایی موجب کاهش اضطراب می‌شود به طوریکه توسط فعالیت افزایش یافته سوپراکسید دیسموتاز،گلوتاتیون-S -ترانسفراز و کاتالاز و پراکسیداسیون کاهش یافته لیپید نشان داده شده است (۲۳). در نتیجه ممکن است که اسید آسکوربیک از طریق اثر آنتی‌اکسیدانی خود اضطراب را کاهش داده باشد. در این مطالعه مشخص شد که تزریق درون پوسته هسته اکومبنسی اسید آسکوربیک و بروموکریپتین به عنوان آگونیست انتخابی گیرنده‌های D2 منجر به کاهش فعالیت اضطرابی در موش‌های صحرایی می‌گردد. در خصوص مکانیسم اعمال اثر ضد اضطرابی اسید آسکوربیک، این مطالعه نشان داد این اثر نمی‌تواند خیلی مربوط به نقش مداخله‌گرانه اسید آسکوربیک در عملکرد گیرنده‌های D2 باشد و در همین رابطه می‌توان نقش مداخله‌گرانه اسید آسکوربیک در عملکرد نوروترانسمیترهایی مانند سروتونین، گابا، استیل کولین و نیز نقش آنتی اکسیدانی آن را نام برد که جهت روشن شدن بیشتر احتیاج به تحقیقات بیشتر می‌باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت دانشگاه شهید باهنر کرمان در انجام این تحقیق تقدیر و تشکر می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.4.14.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.4.100]

Comparison of the Effect of Co-Injection of Ascorbic Acid and D_2 Agonist (Bromocriptine) with Ascorbic Acid in Nucleus Accumbens Shell on Male Rats' Anxiety

R. Naderi (MSc) [1], M. Abbasnejad (PhD) [1 *]

1. Department of Biology, School of Science, Shaheed Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

J Babol Univ Med Sci; 15(4); Jul 2013; pp: 100-108

Received: Oct 22nd 2012, Revised: Jan 6th 2013, Accepted: May 1st 2013.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Ascorbic acid (AA) is present in the most part of central nervous system (CNS) such as nucleus accumbens shell (Acbsh). Previous studies have shown that peripheral injection of AA can reduce anxiety. So the effect of intra-accumbens injection of AA, bromocriptine, and co-administration AA and bromocriptine (Br) on anxiety behavior of rats were investigated by Elevated plus maze (EPM).

METHODS: In this study, 70 adult male Wistar rats (220-270 g) were used in 10 groups: control (intact), sham AA (injected normal saline as AA vehicle), AA (12, 24 and 48 µg/rat/side), sham Br, Br (12.5 and 25 µg/rat/side), AA plus Br (24 and 25 µg/rat), and sham AA plus Br. After surgery and recovery period, drugs were injected (volume= 1µl). Thirty minutes after each injection anxiety parameters (time percent in open arm and closed arm) were measured for 5 min by EPM task.

FINDINGS: The result showed that Intra-accumbens injection of AA (24 µg/side/rat) (223.28±15.24), (48 µg/side/rat) (248.74±12.57) ($p<0.001$), Br (12.5 µg/side/rat) 235.87±17.45 ($p<0.001$) and (25 µg/side/rat) 175.57±20.89 ($p<0.05$) combined injection 228.24±15.99 ($p<0.001$) significantly increased percentage of time spent in open arm in comparison with control.

CONCLUSION: We concluded that intra-accumbens injection of both AA and Br D2 receptor agonist as well as their co-administration induced significant decrease in anxiety behavior, dose dependent or dose independent manner.

KEY WORDS: *Ascorbic acid, Nucleus accumbens, Bromocriptine, Anxiety, Elevated plus maze.*

[*] **Corresponding Author;**
Address: Department of Biology, School of Science, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran
Tel: +98 341 3222032
E-mail: mabbas@mail.uk.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.4.14.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.4.100]

References

1.Honari N, Pourabolli I, Hakimizadeh E, et al. Effect of vitex agnus castus extraction on anxiety-like behaviors in ovariectomized rats. J Babol Univ Med Sci 2012;14(5):29-35. [in Persian]

2.Lopes AP, Ganzer L, Borges AC, et al. Effects of GABA ligands injected into the nucleus accumbens shell on fear/anxiety-like and feeding behaviours in food-deprived rats. Pharmacol Biochem Behav 2012;101(1):41-8.

3.Harrison FE, May JM. Vitamin C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter SVCT2. Free Radic Biol Med 2009;46(6):719-30.

4.Tsukaguchi H, Tokui T, Mackenzie B, et al. A family of mammalian Na^+-dependent L-ascorbic acid transporters. Nature 1999;399(6731):70-5.

5.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 2000;869(1-2):31-8.

6.Pei G, Chun W, Jing Y et al. Differential effects of drug– induced ascorbic acid release in the striatum and the nucleus accumbans of freely moving rats. Neurosci Lett 2006;399(1-2):79-84.

7.Morris BJ. Neuronal localisation of neuropeptide Y gene expression in rat brain. Comp Neurol J 1989;290(3):358-68.

8.Deshpande C, Dhir A, Kulkarni SK. Antagonistic activity of ascorbic acid on dopaminergic modulation apomorphin-induced stereotypic behavior in mice. Pharmacology 2006;77(1):38-45.

9.Sahraei H, Aliabadi A, Zarrindast MR, et al. Ascorbic acid antagonizes nicotine-induced place preference and behavioral sensitization in mice. Eur J Pharmacol 2007;560(1):42-8.

10.Kaufman S, Friedman S. Dopamine-beta-hydroxylase. Pharmacol Rev 1965; 17(1):71-100.

11.Manar A, Angrini and Julian C, Leslie. Vitamin C attenuates the physiological and behavioural changes induced by long-term exposure to noise. Behav Pharmacol 2012;23(2):119-25.

12.Umadevi P, Murugan S, Jennifer Suganthi S, Subakanmani S. Evaluation of antidepressant like activity of cucurbita peto seed extracts rats. Int J Curr Pharm Res 2011;3(1):108-13.

13.Salim S, Sarraj N, Taneja M, Saha K, Tejada-Simon MV, Chugh G. Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. Behav Brain Res 2010; 208(2): 545-52.

14.Weerateerangkull P, Praputpittaya C, Banjerdpongchai R. Effects of ascorbic acid on streptozotocin-induced oxidative stress and memory impairment in rats. Thai J of Physiological Sci 2008;20(2):54-61.

15.Ranjana SK, Negi R, Pande D, Khanna S, Khanna HD. Markers of Oxidative Stress in Generalized Anxiety Psychiatric Disorder: Therapeutic Implications. J Stress Physiol Biochem 2012;8(2):32-8.

16.Badreh F, Abbasnejad M, Derakhshani A, Jonaidi H. Interaction between ascorbic acid and dopamin D2 receptor in the nucleus accumbens shell in response to feeding. Int J Biol Chem 2009;3(4):132-41.

17.Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. J Neurosci Methods 1985;14(3):149-67.

18.Diplama JR, Digregorio GJ. Basic pharmacology in medicine. 3rd ed. USA: MC Graw Hill Publishing Co 1990; pp: 59-160.

19.Rebec GV, Wang Z. Behavioral activation in rats requires endogenous ascorbate release in striatum. J Neurosci 2001;21(2):668-75.

20.Sabzehkhah S, Vaezi GhH, Bakhtiarian A, Salarian A Zare, Haghighi M. The effect of D2 agonist versus D2 antagonist on the fear behavior in the male rats using plus-maze method: the prospective study. Tehran Univ Med J 2009;67(8):535-41. [in Persian]

21.Esmaeilpour Bezenjani KH, Abbasnejad M, Esmaeili Mahani S, Masoumi Ardakani Y. The effect of intrahippocampal injection of ascorbic acid on spatial learning and memory in adult male rats. Physiol Pharmacol 2010;13(4):353-61.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.4.14.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.4.100]

22.Hughes RN, Lowther CL, Van Nobelen M. Prolonged treatment with vitamins C and E separately and together decreases anxiety-related open-field behavior and acoustic startle in hooded rats. Pharmacol Biochem Behav 2011; 97(3):494-9.

23.Koshikawa N, Kitamura M, Kobayashi M, Cools AR. Contralateral turning elicited by unilateral stimulatin of dopamine D2 and D1 receptors in the nucleus accumbens of rats is due to the stimulation of these receptors in the shell, but not the core, of this nucleus. Psychopharmacol 1996;126(3):185-90.

24.Del Arco A, Mora F. Prefrontal cortex-nucleus accumbens interaction: in vivo modulation by dopamine and glutamate in the prefrontal cortex. Pharmacol Biochem Behav 2008;90(2):226-35.

25.Shirayama Y, Chaki S. Neurochemistry of the nucleus accumbens and its relevance to depression and antidepressant action in rodents. Curr Neuropharmacol 2006;4(4):277-91.

26.Lodico R. Trait anxiety: an hidden variable in physiological and pathological processes. Doctoral thesis, Millan, Universita Deglistudi Di Verona 2012; pp: 1-110.

27.Stefanski R, Palejko W, Bidzinski A, Kostowski W, Plaznik A. Serotonergic innervation of the hippocampus and nucleus accumbens septi and the anxiolytic-like action ofthe 5-HT3 receptor antagonists. Neuropharmacology 1993; 32(10):987-93.

28.Liu W, Wu CF, Hung M, Xiao K. Differential effects of acute administration of haloperidol and clozapine on ethanol-induced ascorbic acid release in rat striatum. Eur J Pharmacol 2000;398(3):333-9.

29.Sahley BJ. GABA: The brain and how it affects our behavior. 1st ed. Florida: Pain & Stress Publications 2006; pp: 1-3.

30.Camps M, Kelly PH, Palacios MJ. Autoradiographic localization of dopamine D1 and D2 receptors in the brain of several mammalian species. J Nat Transm Gen Sect 1990;80(2):105-27.

31.Zarrindast MR, Babapoor-Farrokhran S, Babapoor-Farrokhran S, Rezayof A. Involvement of opioidergic system of the ventral hippocampus, the nucleus accumbens or the central amygdala in anxiety-related behavior. Life Sci 2008; 82(23-24):1175-81.

32.Colasanti A, Rabiner EA, Lingford-Hughes A, Nutt DJ. Opioids and anxiety. J Psychopharmacol 2011;25(11):1415-33.

33.Solati J, Oryan SH, Parivar K, Zarindast MR. Effects of amygdala cholinergic system on modulation of anxiety behaviors of rats by use of elevated plus maze test. Sci J Kurdistan Univ Med Sci 2009;14(1):65-74. [in Persian]

34.Brazell MP, Mitchell SN, Joseph MH, Gray JA. Acute administration of nicotine increases the in vivo extracellular levels of dopamine,3,4-dihydroxyphenylacetic acid and ascorbic acid preferentially in the nucleus accumbens of the rat: comparison with caudate-putamen. Neuropharmacology 1990;29(12):1177-85.

35.Shin SH, Striling RG, Hanna AS, Lim M, Wilson JX. Ascorbic acid potentiates the inhibitory effect of dopamine on prolactin release a putative supplementary agent PIF. Endocrinol Exp 1990;24(1-2):157-8.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1392.15.4.14.3]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.4.100]