

تأثیر ویتامین C بر حافظه فضایی و پراکسیداسیون لیپیدی هیپوکامپ موش های صحرایی مسموم با کراک کوکائین

حمیرا حاتمی نعمتی^۱، حاتم احمدی^۲، ابوالفضل الماسی^۳، سمیه حاتمی نعمتی^۳

۱- دانشیار گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم پایه، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران. پست الکترونیکی: hahmadi@cfu.ac.ir

۳- کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۴

چکیده

سابقه و هدف: کراک فرم جامد فرآوری شده از کوکائین است که اثر اعتیادآوری قوی تری نسبت به پودر کوکائین دارد. سوء مصرف محرک‌های روانی و از جمله کراک-کوکائین اثرات نامناسب بر حافظه و یادگیری دارد. مصرف ویتامین‌ها به عنوان یکی از روش‌های درمان مؤثر برای سوء مصرف مواد پیشنهاد شده است. هدف مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر تزریق درون صفاقی ویتامین C بر حافظه‌ی فضایی و پراکسیداسیون لیپیدی در هیپوکامپ رت‌ها طی مسمویت با کراک-کوکائین است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه بر روی شش گروه ۶ تایی از موش‌های صحرایی نر صورت گرفته است. سه روز پس از تزریق درون صفاقی داروهای کراک-کوکائین، ویتامین C و یا ترکیب این داروها در گروه‌های آزمایشی به مدت ۵ روز، دستگاه ماز آبی موریس به منظور سنجش پارامترهای مرتبط با حافظه فضایی مورد استفاده قرار گرفت. سپس نمونه برداری از هیپوکامپ انجام گردید و پارامتر پراکسیداسیون لیپیدی در این ناحیه بر پایه اندازه گیری MDA سنجش گردید. تحلیل آماری داده‌ها به کمک آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی Tukey توسط نرم افزار SPSS صورت گرفت.

یافته‌ها: تزریق درون صفاقی دوز بالای کراک-کوکائین (۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم) به طور معنی داری موجب کاهش پارامترهای مرتبط با حافظه فضایی در روزهای سوم و چهارم دوره آزمایش شد ($P < 0.01$). تزریق درون صفاقی دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ویتامین C، حافظه‌ی فضایی در رت‌های مسموم شده با کراک را بهبود بخشید ($P < 0.05$)، اما بر پراکسیداسیون لیپیدی در ناحیه هیپوکامپ تأثیری نداشت ($P > 0.05$).

نتیجه گیری: دوز بکار رفته ویتامین C در این مطالعه، قادر به بهبود عملکرد حافظه‌ی فضایی رت‌های تحت تیمار با کراک-کوکائین به سطح طبیعی می‌باشد.

واژگان کلیدی: ویتامین C، کراک-کوکائین، حافظه فضایی، پراکسیداسیون لیپیدی

• مقدمه

جوامع بشری ایجاد کرده است. مصرف کنندگان کراک معمولاً در بستری از آسیب پذیری اجتماعی قرار می‌گیرند که اغلب با خشونت، فقر، درگیری خانوادگی و تمایل به مصرف الکل، تنباکو و سایر مواد مخدر همراه است (۴). این دارو موجب بروز بیماری‌های روانی متعدد از جمله افسردگی، اختلال شخصیت ضداجتماعی و اقدام به خودکشی می‌شود (۵). همچنین شواهدی وجود دارد که کراک-کوکائین عملکرد شناختی را مختل می‌کند (۶). مصرف کنندگان این ماده اعتیادآور، تمایل

کو کائین ماده آلاکالوئیدی محرک روانی است که از برگ‌های کوکا (Erythroxylum) استخراج می‌شود. کراک، نمک جامد فرآوری شده با بی‌کربنات سدیم (۱) و نقطه ذوب پایین‌تر (۹۸-۹۶ درجه سانتی‌گراد) است که آن را پنج تا هفت برابر قوی‌تر از پودر کوکائین می‌کند (۲). تحقیقات، استفاده از کراک را با طیف وسیعی از مشکلات قلبی عروقی، تنفسی، عصبی و روانی مرتبط دانسته است (۳). وابستگی به کراک مسئله جدی بوده و مشکلات روانی و اجتماعی متعددی در

• مواد و روش‌ها

انتخاب حیوانات: در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار، تهیه شده از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، در محدوده وزنی 20 ± 5 گرم استفاده شد. به منظور کاهش استرس و عادت به شرایط آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری در دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز، جانوران به مدت دو هفته در گروه‌های ۵ تایی در شرایط دمای ثابت محیطی (22 ± 2 °C) و تنظیم نور با دوره‌ی تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته (روشنایی از ساعت ۷ صبح) نگهداری می‌شدند. هنگام کار با رت‌ها، موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. علت انتخاب موش‌های نر، ساده تر بودن سیستم هورمونی و نیز تداخل کمتر هورمون‌های جنسی با داروها بود.

و سایل و مواد مورد نیاز: عبارت بودند از: دستگاه ماز آبی موریس (Moris Water Maze apparatus)، دستگاه اسپکتروفتومتری، ترازوی دقیق، سرنگ انسولین، میکروسمپلر، انواع میکروتیوب، نر مال سالیان، الکل، پنبه، ماده کراک-کوکائین (شرکت Sigma) و ویتامین C (شرکت Sigma).

تزریق در رت‌های تمام گروه‌های آزمایشی به صورت درون صفاقی و به مدت ۵ روز بود. گروه‌های آزمایشی به صورت تصادفی به صورت شش گروه ۶ تایی انتخاب شدند: گروه کنترل، که هیچ‌گونه تیماری اعمال نگردید. گروه ویتامین C که دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C را به مدت ۵ روز دریافت کردند. گروه‌های آزمایشی کراک-کوکائین که دوزهای ۵ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین را به مدت ۵ روز دریافت کردند و گروه‌های آزمایشی ترکیبی دریافت‌کننده کراک-کوکائین با ویتامین C که دوز ۵ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین را به همراه دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C به مدت ۵ روز دریافت کردند. الگوی بکارگیری دوزهای دارویی استفاده شده و مدت تیمار بر پایه مطالعات قبلی بوده است (۲۳-۲۵).

روش مطالعه‌ی حافظه فضایی در ماز آبی موریس: جهت بررسی اثرات افزایشنده و یا کاهشنده دوزهای مورد استفاده کراک-کوکائین و نیز ترکیب آن با دوز مصرفی ویتامین C بر حافظه‌ی فضایی، روش ماز آبی موریس مورد استفاده قرار گرفت. علت استفاده از دستگاه ماز آبی برای سنجش پارامترهای مرتبط با حافظه فضایی این بود که انجام فعالیت‌های لازم در این دستگاه، نیازمند عملکرد درست حافظه است (۲۶). سه روز پس از اتمام تیمار و به منظور سنجش پارامترهای مرتبط با حافظه فضایی، هر رت به مدت ۵

به ایجاد الگوی شدید وابستگی در یک دوره زمانی کوتاه، بعد از مصرف را از خود نشان می‌دهند (۷). مطالعات نشان داده که قرار گرفتن در معرض محرک‌های روانی، در روند یادگیری و حافظه مرتبط با ناحیه CA1 هیپوکامپ تغییراتی ایجاد می‌کند (۸). ساختارهای مغزی قشر پری‌فرونتال، هیپوکامپ و بخش مرکزی هسته آکومبنس با اثرات پاداش کوکائین و همچنین فرآیندهای انگیزشی مرتبط با اعتیاد به مواد مخدر مرتبط هستند (۹). گزارش شده که مصرف مکرر و مزمن کوکائین باعث اختلال در عملکرد قشر جلوی مغز و آمیگدال می‌شود (۱۰). همچنین گزارش شده که دوزهای بالای تجویز کوکائین به طور مزمن، تثبیت حافظه را مختل می‌کند (۱۱، ۱۲). در عین حال گزارش شده که مصرف کوکائین، پروتئین‌های مرتبط با حافظه را در هیپوکامپ افزایش می‌دهد (۱۳). مصرف اختیاری کوکائین، یادگیری و حافظه را نیز بهبود می‌بخشد (۱۴). اثرات کوکائین ممکن است حافظه‌ی کاری فضایی مرتبط با قشر جلوی مغز را بهبود ببخشد (۱۵).

از جمله آنتی‌اکسیدان‌های شناخته شده‌ای که در دسترس انسان است، لاکتات شش کربنه و محلول در آب به نام اسید اسکوربیک (ویتامین C) است که در منابع غذایی همچون مرکبات، انگور، انواع توت، کلم، گوجه فرنگی، فلفل و سبزیجات یافت می‌شود (۱۶). غلظت ویتامین C در مایع مغزی نخاعی ۳-۴ برابر (حدود ۱۲۰ میکرومولار) بیشتر از پلاسما (حدود ۴۰ میکرومولار) است و با وجود تقاضای بالای مغز برای آن، از منابع غذایی تامین می‌شود (۱۷). این ویتامین در سیستم عصبی مرکزی متمرکز شده و با پاکسازی مواد سمی تولید شده در مغز، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده (۱۸) و می‌تواند زوال عقل ناشی از افزایش سن یا عوامل آنتی‌کولینرژیک در حیوانات را بهبود بخشد (۱۹). همچنین مزایای ضد درد اسید اسکوربیک در زمینه درد حاد پس از جراحی، درد مرتبط با سرطان و درد مزمن غیر مرتبط با سرطان نشان داده شده است (۲۰). همچنین استفاده از برخی ویتامین‌ها مانند ویتامین B3 (نیکوتین آمید) به عنوان یک درمان مؤثر برای سوء مصرف مواد پیشنهاد شده است (۲۱).

باتوجه به اهمیت حیاتی و نقش اثبات شده هیپوکامپ در عملکرد حافظه فضایی (۲۲)، هدف از پژوهش حاضر بررسی تعیین اثر کراک-کوکائین و برهم‌کنش آن با ویتامین C بر حافظه‌ی فضایی و تغییر در پارامتر پراکسیداسیون لیپیدی در هیپوکامپ رت‌های نر می‌باشد.

مطالعات آماری: داده‌های به دست آمده در نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل آماری می‌شد. به علت اینکه داده‌ها دارای توزیع نرمالی بود، از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه برای مقایسه تفاوت کمی میانگین داده‌ها در گروه‌های آزمایشی و برای مقایسه تفاوت کیفی میانگین داده‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. $P < 0.05$ به عنوان تفاوت مقدار معنی‌دار گروه‌ها مورد ملاک قرار می‌گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2007 صورت می‌گرفت.

• یافته‌ها

اثر تزریق درون صفاقی ویتامین C بر حافظه فضایی در موش صحرایی نر: تزریق درون صفاقی دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C در موش‌های صحرایی نر طی ۵ روز آزمایش، تغییری معنی‌دار در پارامتر زمان سپری شده (جدول ۱) و نیز مسافت طی شده برای یافتن سکو (جدول ۱) در ماز آبی موریس نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد ($P > 0.05$). این بخش از نتایج تحقیق نشان داد که تزریق درون صفاقی دوز بکار رفته ویتامین C به تنهایی اثری تقویتی و یا تخریبی بر حافظه و یادگیری فضایی در موش‌های صحرایی ندارد.

اثر تزریق درون صفاقی کراک-کوکائین بر حافظه فضایی در موش صحرایی نر: تزریق درون صفاقی دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین تغییری معنی‌دار در هیچ‌کدام از پارامترهای مربوط به زمان یافتن سکو (نمودار ۱) و مسافت طی شده برای یافتن سکو (نمودار ۲) در روزهای آزمایش نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد ($P > 0.05$). نتایج تحقیق نشان داد که اعمال دوز پایین کراک-کوکائین در موش صحرایی طی روزهای آزمایش، اثر معنی‌دار افزایشی و یا کاهش‌ی بر حافظه فضایی ندارد.

روز و هر روز در یک نوبت (هر نوبت شامل ۴ تجربه) در دستگاه ماز آبی موریس تحت آزمایش قرار می‌گرفت. پس از اتمام تجربه چهارم در هر نوبت، رت‌ها از دستگاه خارج و خشک می‌شدند. پارامترهای قابل اندازه‌گیری و مرتبط با حافظه فضایی در ماز آبی موریس عبارتند از: ۱- زمان پیدا کردن سکو، ۲- مسافت طی شده برای پیدا کردن سکو. این پارامترها به کمک دوربین نصب شده و نرم افزار Maze Router ثبت می‌شد (۲۶).

سنجش پراکسیداسیون لیپیدی: ۲۴ ساعت بعد از آخرین آزمایش در ماز آبی موریس، رت‌ها با پنبه‌ی آغشته به کلروفرم بیهوش شدند و سر آن‌ها توسط گیوتین جدا و بر روی تخته یخ بسته قرار داده می‌شد. هیپوکامپ از مغز جدا شده و بلافاصله در نیتروژن مایع -80°C درجه سانتی‌گراد فریزر شدند. به منظور تهیه هموزن بافتی از هیپوکامپ، روی هر یک از نمونه‌ها، محلول سرد KCL ۱۵ درصد با نسبت (۱:۱۰w/v)

اضافه گردید و سپس هموزن بافتی با استفاده از هموزنایزر مکانیکی تهیه شد. بعد از سانتریفیوژ کردن در دور ۳۰۰۰ RPM و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای 4°C درجه سانتی‌گراد، محلول شفاف روئی از رسوب زیرین جدا شد تا برای آنالیزهای پراکسیداسیون لیپیدی مورد استفاده قرار گیرد (۲۷).

مالون دی‌آلدئید (MDA Malone di aldehyde) حاصل تجزیه پلی‌اسیدهای چرب غیراشباع است و اندازه‌گیری آن شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی است. اندازه‌گیری MDA بر پایه واکنش با تیوباربیتوریک اسید و ایجاد TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) است، که جذب نوری آن در دستگاه اسپکترومتر در طول موج ۵۳۲ nm تعیین گردید و غلظت آن بر حسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین (nmol/mg) بیان شده است (۲۷).

جدول ۱. مقایسه زمان و مسافت طی شده برای یافتن سکو در آزمون ماز آبی موریس طی روزهای آزمایش بین گروه رت‌های دریافت کننده دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C با گروه کنترل

گروه‌ها	روزهای آزمایش					روزهای آزمایش				
	۱	۲	۳	۴	۵	۱	۲	۳	۴	۵
کنترل	۶۶۰	۵۲۳	۳۵۴	۱۸۷	۲۰۱	۴۴	۲۳	۱۸	۱۳	۱۴
ویتامین C (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۴۷۰	۲۷۵	۳۶۲	۴۱۱	۲۱۹	۴۳	۲۲	۲۰	۱۵	۱۳
	میانگین مسافت طی شده برای رسیدن به سکو (سانتی متر)					میانگین زمان طی شده برای رسیدن به سکو (ثانیه)				

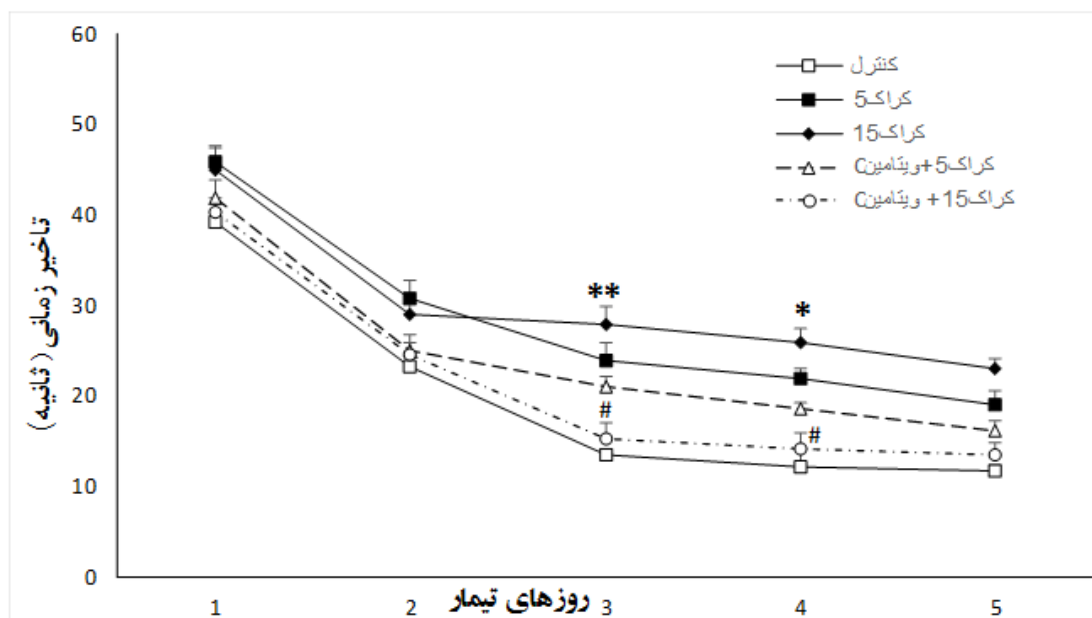
آنالیز میانگین داده‌های گروه‌های آزمایشی با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه صورت گرفت ($P > 0.05$).

شده برای رسیدن به سکو در روز سوم (نمودار ۱، $P < 0/05$) و چهارم آزمایش (نمودار ۱، $P < 0/05$) نسبت به گروه کراک-کوکائین شد. همچنین ترکیب ویتامین C با کراک-کوکائین موجب کاهش مسافت طی شده برای یافتن سکو در روز سوم آزمایش (نمودار ۲، $P < 0/05$) به حالت نرمال شد. نتایج برهم کنش داروها نشان داد که تزریق درون صفاقی دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ویتامین C موجب بهبودی حافظه رت‌های مسموم شده با دوز بالای کراک-کوکائین می‌شود.

اثر تداخل تزریق درون صفاقی ویتامین C و دوز بالای کراک-کوکائین بر پراکسیداسیون لیپیدی در هیپوکامپ موش صحرائی نر: تزریق درون صفاقی دوزهای ۱۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین و نیز تزریق درون صفاقی ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ویتامین C اثری معنی‌دار بر پارامتر پراکسیداسیون لیپیدی در هیپوکامپ رت‌های تحت آزمایش نداشت (نمودار ۳). همچنین نتایج برهم کنش داروها نشان داد که ترکیب تزریق درون صفاقی دوز بالای کراک-کوکائین با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ویتامین C به صورت درون صفاقی اثر معنی‌داری بر این پارامتر نداشت (نمودار ۳).

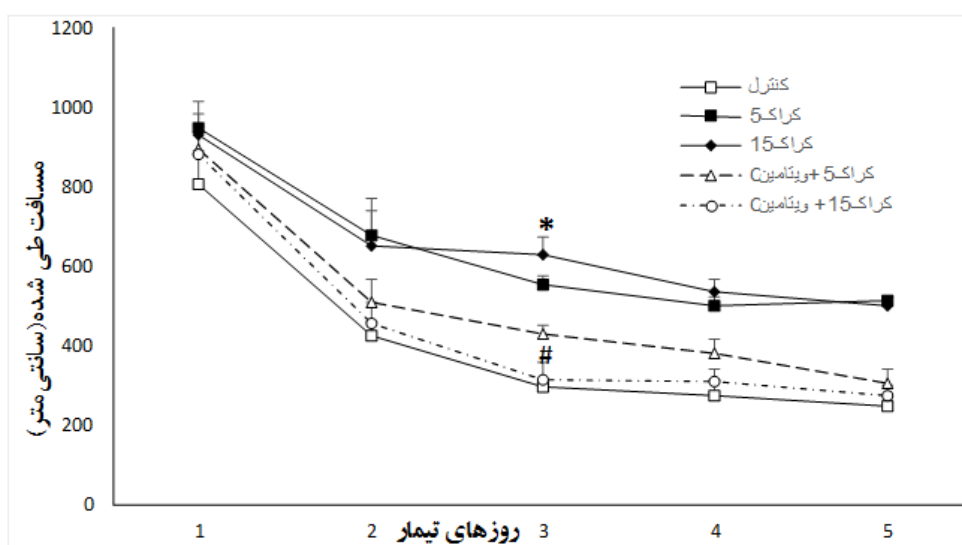
همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق درون صفاقی دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین باعث تأخیر زمانی برای یافتن سکو در روزهای سوم (نمودار ۱، $P < 0/01$) و چهارم آزمایش (نمودار ۱، $P < 0/05$) نسبت به گروه کنترل شد، در صورتی که در روزهای اول، دوم و پنجم آزمایش تغییری در زمان یافتن سکو نسبت به گروه کنترل ایجاد نشد. اعمال این دوز دارو در گروه آزمایشی مذکور، تنها در روز سوم آزمایش موجب افزایش مسافت طی شده برای یافتن سکو نسبت به گروه کنترل شد (نمودار ۲، $P < 0/05$). نتایج این بخش از مطالعه نشان داد که اعمال دوز بالای کراک-کوکائین در موش صحرائی، با افزایش زمان و مسافت طی شده برای یافتن سکو در ماز آبی موریس، موجب اختلال در حافظه فضایی، بویژه در روزهای سوم و چهارم دوره آزمایشی شد.

اثر تزریق درون صفاقی ویتامین C بر اختلال حافظه ناشی از اعمال دوز بالای کراک-کوکائین بر حافظه فضایی در موش صحرائی نر: تزریق درون صفاقی ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ویتامین C، موجب کاهش اثر دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین روی مدت زمان سپری



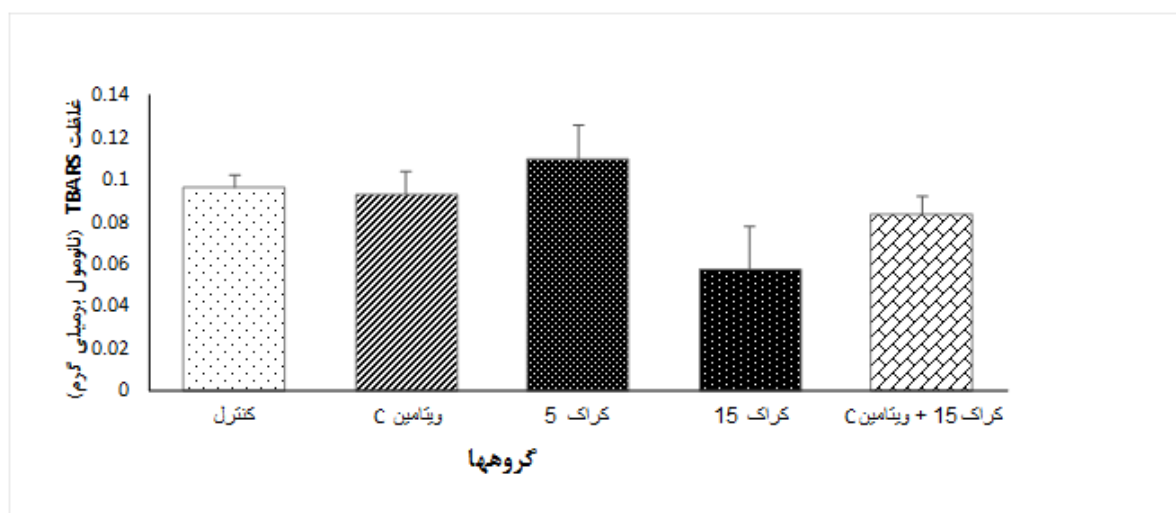
نمودار ۱. مقایسه‌ی زمان طی شده برای یافتن سکو در آزمون ماز آبی موریس طی روزهای آزمایش بین گروه‌های رت کنترل، دریافت کننده کراک-کوکائین ۵ و ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم و مسموم با کراک-کوکائین تحت درمان با دوز ۵۰ کیلوگرم بر کیلوگرم ویتامین C

علامت * و **، به ترتیب $P < 0/05$ و $P < 0/01$ ، بیانگر معنی دار بودن اثر دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین نسبت به گروه کنترل و علامت #، $P < 0/05$ ، بیانگر معنی‌دار بودن مقایسه‌ی گروه ترکیبی دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین + ویتامین C نسبت به گروه کراک-کوکائین با دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم. آنالیز میانگین داده‌های گروه‌های آزمایشی با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی Tukey صورت گرفت.



نمودار ۲. مقایسه‌ی مسافت طی شده برای یافتن سکو در آزمون مازآبی موریس طی روزهای آزمایش بین گروه‌های رت کنترل، دریافت کننده کراک-کوکائین ۵ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و مسموم با کراک-کوکائین تحت درمان با دوز ۵۰ کیلوگرم بر کیلوگرم ویتامین C

علامت*، $P < 0.05$ ، بیانگر معنی‌دار بودن اثر دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین نسبت به گروه کنترل و علامت #، $P < 0.05$ ، بیانگر معنی‌دار بودن مقایسه‌ی گروه ترکیبی دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین + ویتامین C نسبت به گروه کراک-کوکائین با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم. آنالیز میانگین داده‌های گروه‌های آزمایشی با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی Tukey صورت گرفت.



نمودار ۳. اثر دوزهای ۱۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین، ویتامین C و برهم کنش آنها بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) هیپوکامپ موش صحرائی نر.

آنالیز میانگین داده‌های گروه‌های آزمایشی با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی Turkey صورت گرفت.

• بحث

آبی موریس و نیز پراکسیداسیون لیپیدی ناحیه هیپوکامپ مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس آنالیز داده‌های حاصل از این مطالعه، اعمال دوز پایین ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین بر حافظه‌ی فضایی رت‌های مورد مطالعه و پراکسیداسیون لیپیدی در ناحیه هیپوکامپ آنها اثر معنی‌داری

در این کار پژوهشی، تأثیر تزریق درون صفاقی دوزهای ۵ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین و نیز برهم کنش آن با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C به مدت ۵ روز بر حافظه‌ی فضایی موش‌های صحرائی نر با استفاده از تست ماز

رت‌ها ناشی از تجویز ماده سمی سرب، به علت تحریک فرآیندهای پراکسیداسیون لیپیدی و بروز استرس اکسیداتیو و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن است (۳۴). با این حال، گزارش شده که قرار گرفتن در معرض دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوکائین پس از تمرین، عملکرد حافظه فضایی را مختل نمی‌کند (۳۵). دتریچ و همکاران ادعا کردند که ممکن است دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این دارو برای بروز اختلال در حافظه به اندازه کافی بالا نباشد (۳۶). حیواناتی که کوکائین را به صورت اختیاری مصرف می‌کنند، بهتر از حیوانات کنترل در آزمایش ماز آبی عمل می‌کنند (۱۴). در واقع مصرف اختیاری کوکائین نه تنها عملکرد جانوران در پارامترهای اندازه‌گیری شده آزمایش ماز آبی را مختل نکرد، بلکه یادگیری و حافظه را نیز بهبود بخشید (۱۴). همسویی و یا ناهمسویی نتایج این مطالعه با نتایج محققین قبلی را می‌توان به تفاوت در طراحی آزمایش‌ها نسبت داد (۳۳). گزارش شده که دوز بالای درون صفاقی ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوکائین باعث افزایش تولید هیدروپراکسید و پراکسیداسیون لیپیدی در قشر پیری فرونتال موش صحرایی می‌شود (۳۷). تزریق دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین در این مطالعه، موجب اختلال در حافظه‌ی فضایی در میانه روزهای آزمایش (سوم و چهارم) شد و در روزهای اولیه و پایانی آزمایش اثر معنی‌داری بر اختلال حافظه نداشت. با مقایسه کلی نتایج این تحقیق با نتایج متفرقه و اغلب متضاد مطالعات قبلی، می‌توان چنین استنباط کرد که ممکن است عدم تأثیر دارو در روزهای اولیه آزمایش ناشی از حد بودن دوره مصرفی دارو باشد. برخلاف نتایج برخی از مطالعات پیشین، مبنی بر تأثیر دارو بر پراکسیداسیون لیپیدی در نواحی از مغز (۳۷)، بررسی دوزهای مصرفی کراک-کوکائین بر پراکسیداسیون لیپیدی در این مطالعه، نشان می‌دهد که اگر چه به ظاهر دوز پایین آن تا حدی موجب افزایش و دوز بالای آن موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل شده است، ولی تحلیل آماری نشان می‌دهد که این تأثیرات معنی‌دار نیست. لذا ممکن است اختلال در حافظه فضایی ناشی از تزریق این دوز دارو در این تحقیق با مکانیسم کاهش دوپامین در هیپوکامپ توجیه و تفسیر شود (۳۳).

از دیگر نتایج این مطالعه، عدم تأثیر دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C بر پراکسیداسیون لیپیدی ناحیه‌ی هیپوکامپ و حافظه‌ی فضایی رت‌ها در روزهای آزمایش است. در مطالعات قبلی اثر مفید ویتامین C بر بهبودی زوال عقل ناشی از افزایش سن یا عوامل آنتی‌کولینرژیک در

نداشت. مطالعات نشان داده که اثرات ناشی از تجویز حد کوکائین با تجویز مزمن آن متفاوت است، طوریکه ارتقاء عملکرد حافظه و یادگیری ناشی از تجویز حاد کوکائین در انسان و جوندگان با اختلال در یادگیری ناشی از تجویز مزمن این دارو در تضاد است (۲۸). با وجود اینکه تجویز حاد کوکائین اغلب اثرات تقویت‌کننده شناختی را به همراه دارد، تجویز طولانی مدت این دارو اغلب اختلالاتی را در عملکردهای شناختی نشان می‌دهد (۲۹). موافق با نتایج مطالعه حاضر، نتایج مطالعات قبلی نشان می‌دهد کوکائین باعث افزایش پاداش در رت‌ها می‌شود (۳۰). همچنین گزارش شده که تجویز حاد کوکائین در دوزهای متوسط و پایین ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نه تنها موجب اختلال در حافظه و یادگیری نمی‌شود، بلکه موجب افزایش اعمال یادگیری، از جمله یادگیری اجتنابی مهارتی و یادگیری اجتنابی شرطی در جانوران آزمایشگاهی می‌شود (۳۱، ۳۲). تجویز حاد کوکائین در دوزهای پایین پس از تمرین، ممکن است عملکرد حافظه در الگوهای شرطی‌سازی ترس را افزایش دهد (۲۳). دوز پایین ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوکائین که در عرض ۲ ساعت پس از تمرین تجویز می‌شود، عملکرد حافظه فضایی در موش‌های C57BL/6 را تسهیل می‌کند (۳۳). از دیگر نتایج مطالعه حاضر، تزریق دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کراک-کوکائین که همانند دوز پایین آن بر پارامتر پراکسیداسیون لیپیدی بی‌اثر بود، اما این دوز از دارو موجب کاهش حافظه‌ی فضایی در گروه آزمایشی مربوطه شد. رت‌های این گروه نسبت به گروه کنترل، زمان و مسافت بیشتری را برای پیدا کردن سکو در ماز آبی صرف کردند، طوری که این دوز از دارو در روزهای سوم و چهارم آزمایش، سبب کاهش معنی‌دار حافظه نسبت به گروه کنترل شد (به ترتیب $P < 0.01$ و $P < 0.05$). اختلال در حافظه‌ی فضایی ناشی از تجویز دوز بالای کراک-کوکائین در این مطالعه با نتایج برخی از مطالعات قبلی همخوانی دارد. دوزهای بالای ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوکائین که به طور مزمن، قبل و یا در طول تمرین تجویز می‌شود، موجب اختلال در تثبیت حافظه می‌شود (۱۲، ۱۳). ممکن است اختلال در حافظه‌ی فضایی ناشی از اعمال دوز بالای کراک-کوکائین در مطالعه حاضر به علت کاهش آزادسازی دوپامین در هیپوکامپ مغزی باشد (۳۳). هیپوکامپ ورودی‌های دوپامینرژیک را از ناحیه تگمننتال شکمی دریافت می‌کند و اختلال در میزان آزادسازی دوپامین از نورون‌های ورودی به این ناحیه، بر وظایف حافظه‌ی فضایی تأثیر منفی می‌گذارد (۳۳). همچنین هریسون و همکاران پیشنهاد کردند که مکانیسم کاهش حافظه در

اکسیدانی است که به عنوان بخشی از گلوتامات از نورون های گلوتاماترژیک آزاد می شود (۴۰) و نیز شواهد تجربی نشان می دهد که این ویتامین نقش کلیدی در تعدیل سیستم های گلوتاماترژیک و دوپامینرژیک دستگاه عصبی مرکزی و همچنین رفتار ایفا می کند (۴۰)، احتمال می رود که مکانیسم آزادسازی گلوتامات و یا دوپامین (۴۰) و یا بهبودی پارامترهای استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در اعمال محافظتی ویتامین C علیه سمیت ناشی از تجویز کراک-کوکائین مؤثر باشد (۴۱).

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، دوز بکار رفته ویتامین C موجب بهبودی اثرات ناشی از دوز بالای کراک-کوکائین بر اختلال حافظه ی فضایی در ماز آبی موریس شد. از مزایای مطالعه حاضر، بررسی پارامترهای مرتبط با حافظه و نیز پارامتر پراکسیداسیون لیپیدی به عنوان نمادی از تغییرات بافتی و سلولی است. از محدودیت های مطالعه حاضر، محدودیت زمانی برای انجام تحقیق و نیز کمبود امکانات و دستگاه های آزمایشگاهی برای سنجش دیگر پارامترهای رفتاری و تغییرات بافتی در تکمیل و تأیید نتایج این مطالعه بود. با توجه به گزارش های متفاوت قبلی و نیز نتایج حاصل از این پژوهش، مطالعات بیشتر با شیوه های مختلف تجویز داروها به صورت حاد و مزمن و نیز بررسی پارامترهای استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در هیپوکامپ و دیگر مراکز مغزی مرتبط با حافظه، جهت تأیید نقش ویتامین C در بهبودی مشکلات حافظه و یادگیری ناشی از سوء مصرف مواد مخدر پیشنهاد می گردد.

سپاسگزاری: از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز بابت تأمین اعتبار لازم، قدردانی می گردد.

حیوانات گزارش شده است (۱۹). تزریق دوز درون صفاقی ۱۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم اسید اسکوربیک دارای اثر ارتقاء کیفیت رفتار موش های نوع وحشی و موش های تراریخته APP/PSEN1 مسن می شود (۳۳). دقت شناکردن به عنوان یکی از پارامترهای یادگیری و حافظه ی فضایی در هر دو گونه موش ذکر شده نسبت به گروه کنترل در ماز آبی بهتر بود. این اثرات ویتامین C، مستقل از هر گونه تأثیر طولانی مدت بر پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت استیل کولین استراز بود (۳۸).

برهم کنش تجویز داروها در این تحقیق نشان داد که اعمال درون صفاقی دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسید اسکوربیک می تواند موجب بهبود حافظه ی فضایی مختل شده ناشی از اعمال دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم ناشی از کراک-کوکائین شود. در مطالعات قبلی، اثرات محافظتی احتمالی ویتامین C، ویتامین B12، و امگا ۳ به تنهایی و یا به صورت ترکیبی بر روی اختلال حافظه ی ناشی از سرب در رت ها مورد بررسی قرار گرفته است (۳۸، ۳۴). تجویز ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم ویتامین C به مدت سه هفته قبل از قرار گرفتن در معرض سرب، می تواند به وضوح از اختلالات حافظه ی ناشی از سرب جلوگیری کند (۳۹). اسید اسکوربیک در معکوس کردن اختلال LTP ناشی از سرب در هیپوکامپ مؤثر است (۳۹). همچنین در مطالعه بر روی بیماران مبتلا به آلزایمر گزارش شده که درمان همزمان با اسید اسکوربیک باعث بهبود اختلال حافظه ی ناشی از D-گالاکتوز می شود (۴۰). علایی و همکاران در نتایج حاصل از یک مطالعه در سال ۲۰۰۵ گزارش کردند که موش هایی که ابتدا با اسید اسکوربیک تیمار می شدند و سپس دوبار در روز تحت تزریق مرفین قرار می گرفتند، به طور قابل توجهی کمتر در معرض تحمل و وابستگی به مرفین بودند (۴۰). مزایای اسید اسکوربیک وابسته به دوز است (۴۱). با توجه به اینکه ویتامین C یک ویتامین آنتی

• References

- Casale JF, Mallette JR, Jones LM. Chemosystematic identification of fifteen new cocaine-bearing *Erythroxylum* cultigens grown in Colombia for illicit cocaine production. *Forensic Sci Int Genet*. 2014; 237:30-39.
- Kumar S, Curtin WA. Crack interaction with microstructure. *Mater Today Bio*. 2007;10(9):34-44.
- Falck RS, WANG J, Carlson RG. Crack cocaine trajectories among users in a midwestern American city. *Addiction*. 2007; 107(9):1421-31.
- Perrenoud LO, Oikawa KF, Williams AV, Laranjeira R, Fischer B, Strang J, et al. Factors associated with crack-cocaine early initiation: a Brazilian multicenter study. *BMC Public Health*. 2021; 21: 781.

5. Narvaez JCM, Jansen K, Pinheiro RT, Kapczinski F, Silva RA, Pechansky F, et al. Psychiatric and substance-use comorbidities associated with lifetime crack cocaine use in young adults in the general population. *Compr Psychiatry*. 2014; 55(6):1369-76.
6. Meyer VJ, Little DM, Fitzgerald DA, Sundermann EE, Rubin LH, Martin EM, et al. Crack cocaine use impairs anterior cingulate and prefrontal cortex function in women with HIV infection. *J Neurovirol*. 2014; 20: 352-361.
7. Rosário BDA, de Nazaré MFS, Estadella D, Ribeiro DA, Viana MB. Behavioral and neurobiological alterations induced by chronic use of crack cocaine. *Rev Neurosci*. 2019;31(1):59-75.
8. Kishi T, Tsumori T, Yokota S, Yasui Y. Topographical projection from the hippocampal formation to the amygdala: a combined anterograde and retrograde tracing study in the rat. *J Comp Neurol*. 2006; 496:349-368.
9. Pomierny-Chamiolo L, Moniczewski A, Wydra K, Suder A, Filip M. Oxidative stress biomarkers in some rat brain structures and peripheral organs underwent cocaine. *Neurotox Res*. 2013; 23:92-102.
10. Schoenbaum G, Setlow B. Cocaine makes actions insensitive to outcomes but not extinction: implications for altered orbitofrontal-amygdalar function. *Cereb Cortex*. 2005; 15:1162-1169.
11. Coluccia E, Louse G. Gender differences in spatial orientation: A review. *J. Environment. Psychol*. 2004;24(3):329-340.
12. Quirk PL, Richards RW, Avery DD. Subchronic cocaine produces training paradigm-dependent learning deficits in laboratory rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2001;68(3):545-53.
13. Thompson AM, Gosnell BA, Wagner JJ. Enhancement of long-term potentiation in the rat hippocampus following cocaine exposure. *Neuropharmacol*. 2002;42(8):1039-42.
14. del Olmo N, Miguens M, Higuera-Matas A, Torres I, Garcia-Lecumberri C, Solis JM, et al. Enhancement of hippocampal long-term potentiation induced by cocaine self-administration is maintained during the extinction of this behavior. *Brain Res*. 2006; 1116:120-126.
15. Xing B, Guo J, X Meng X, Wei S, Li S. The dopamine D1 but not D3 receptor plays a fundamental role in spatial working memory and BDNF expression in prefrontal cortex of mice. *Behavioural brain research*. 2012; 235(1): 36-41.
16. Devasagayam TP, Tilak JC, Bolor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India*. 2004; 52:794-804.
17. Hasselholt S, Tveden-Nyborg P, Lykkesfeldt J. Distribution of vitamin C is tissue specific with early saturation of the brain and adrenal glands following differential oral dose regimens in guinea pigs. *British Journal of Nutrition*. 2015; 113 (10):1539 - 49.
18. 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. *Pharmacol Biochem Behav*. 2008;89(1):1-5.
19. Parle M, Dhingra D. Ascorbic Acid: a promising memory-enhancer in mice. *J Pharmacol Sci* 2003;93(2):129-135.
20. Jeon Y, Park J, Moon S, Yeo J. Effect of intravenous high dose vitamin C on postoperative pain and morphine use after laparoscopic colectomy: a randomized controlled trial. *Pain. Res. Manag*. 2016; 1-6.
21. Otte N, Borelli C, Korting HC. Nicotinamide - biologic actions of an emerging cosmetic ingredient *Int J Cosmet Sci*. 2005; 27:255-261.
22. Sekeres MJ, Neve RL, Frankland PW, Josselyn SA. Dorsal hippocampal CREB is both necessary and sufficient for spatial memory. *Learn Mem*. 2010;17(6):280-3.
23. Wood SC, Fay J, Sage JR, Anagnostaras SG. Cocaine and Pavlovian fear conditioning: dose-effect analysis. *Behav Brain Res*. 2007;176(2):244-50.
24. Kim MS, Kim DJ, Na CH, Shin BS. A Study of Intravenous Administration of Vitamin C in the Treatment of Acute Herpetic Pain and Postherpetic Neuralgia. *Ann Dermatol*. 2016; 28(6): 677-683.
25. Calipari ES, Beveridge TJ.R, Jones SR, Porrino LJ. Withdrawal from extended-access cocaine self-administration results in dysregulated functional activity and altered locomotor activity in rats. *Eur J Neurosci* 2013; 38(12): 3749-3757.
26. Gallagher M, Burwell R, Burchinal M. Severity of spatial learning impairment in aging: Development of a learning index for performance in the Morris water maze. *Neurosci*. 2015; 129(4), 540-548.
27. Hosseinzadeh H, Parvardeh S, NassiriAsl M, Sadeghnia H.R, Ziaee T, Effect of thymoquinone and Nigella sativa seeds oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia-reperfusion injury in rat hippocampus. *Phytomed*. 2007;14(9): 621-627.
28. Spronk DB, van Wel JHP, Ramaekers JG, Verkes RJ. Characterizing the cognitive effects of cocaine: a comprehensive review. *Neurosci. Biobehav Rev*. 2013; 37:1838-1859.
29. van Heugten-Van der Kloet D, Giesbrecht T, Wel JV, Bosker WM, Kuypers KPC, Theunissen EL, et al. MDMA, cannabis, and cocaine produce acute dissociative symptoms. *Psychiatry Res*. 2015; 228(3):907-12.
30. Roesch MR, Takahashi Y, Gugs N. et al. Previous cocaine exposure makes rats hypersensitive to both delay and reward magnitude. *J Neurosci*. 2007; 27:245-50.
31. Spear L.P, Frambes N.A, Kirstein C. L. Fetal and maternal brain and plasma levels of cocaine and benzoylecgonine following chronic subcutaneous administration of cocaine during gestation in rats. *Psychopharmacol*. 1989; 97: 427-31.
32. Silva A. J, Giese K. P, Fedorov N.B, Frankland P.W, Kogan J. H. Molecular, cellular and neuroanatomical substrates of place learning. *Neurobiol Learn Mem*. 1998; 70: 44-61.
33. Iñiguez SD, Charntikov SS, Baella SA, Herbert MS, Bolaños-Guzmán CA, Crawford CA. Post-

- training Cocaine Exposure Facilitates Spatial Memory Consolidation in C57BL/6 Mice. *Hippocampus*. 2012; 22(4): 802–813.
34. Harrison FE, May JM, McDonald MP. Vitamin C deficiency increases basal exploratory activity but decreases scopolamine-induced activity in APP/PSEN1 transgenic mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 2010; 94:543–552.
35. Martig AK, Mizumori SJ. Ventral tegmental area disruption selectively affects CA1/CA2 but not CA3 place fields during a differential reward working memory task. *Hippocampus*. 2011; 21:172-184.
36. Dietrich JB, Mangeol A, Revel MO, Burgun C, Aunis D, Zwiller J. Acute or repeated cocaine administration generates reactive oxygen species and induces antioxidant enzyme activity in dopaminergic rat brain structures. *Neuropharmacol*. 2005; 48:965–974.
37. Numa R, Kohen R, Poltyrev T, Yaka R. Tempol diminishes cocaine-induced oxidative damage and attenuates the development and expression of behavioral sensitization. *Neurosci*. 2008; 155:649– 658.
38. Moosavirad SA, Rabbani M, Sharifzadeh M, Ali Hosseini-Sharifabad A. Protective effect of vitamin C, vitamin B12 and omega-3 on lead-induced memory impairment in rat. *Res Pharm Sci*. 2016; 11(5): 390–396.
39. Karamian R, Komaki A, Salehi I, Tahmasebi L, Komaki H, Shahidi S, et al. Vitamin C reverses lead-induced deficits in hippocampal synaptic plasticity in rats. *Brain Res. Bull* 2015; 116:7–15.
40. Olajide O J, Yawson E.O, Gbadamosi I.T, Arogundade T.T, Lambe E, Obasi K, et al. Ascorbic acid ameliorates behavioural deficits and neuropathological alterations in rat model of Alzheimer's disease. *Environ. Toxicol. Pharmacol*. 2017; 50:200–211.
41. Alaei H, Esmaeili M, Nasimi A, Pourshanzari A. Ascorbic acid decreases morphine self-administration and withdrawal symptoms in rats. *Pathophysiol*. 2005;12(2):103-107.

Effects of Vitamin C on the Spatial Memory and Lipid Peroxidation of Rat Hippocampus Poisoned with Crack Cocaine

Hatami Nemati H¹, Ahmadi H^{*2}, Almasi A³, Hatami Nemati S³

1- Assotiated Professor, Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2-* Corresponding author: Assistant Professor, Department of Basic Sciences, University of Farhangian, Tehran, Iran, Email: hahmadi@cfu.ac.ir

3- Master Student of Sciences in physiology, Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Received 18 Jan, 2022

Accepted 24 Apr, 2022

Background and Objectives: Crack is a processed solid form of cocaine that includes stronger addictive effects than those of cocaine powder. Abuse of psychological stimuli, including crack cocaine, includes adverse effects on the memory and learning. Use of vitamins has been suggested as an effective treatment for the substance abuse. The aim of this study was to assess effects of the intraperitoneal injection of vitamin C on spatial memory and lipid peroxidation in the hippocampus of rats during crack cocaine poisoning.

Materials & Methods: This study was carried out on six groups of six male rats. Three days after intraperitoneal injection of crack cocaine, vitamin C or a combination of these drugs in the experimental groups for five days, Morris water maze device was used to assess spatial memory-linked parameters. Rats were then sacrificed and their hippocampus was removed and lipid peroxidation in this brain site was assessed using malondialdehyde. Statistical analysis of data was carried out using one-way analysis of variance and SPSS Software. Statistical analysis of data was carried out using one-way analysis of variance, Tukey post-hoc test and SPSS Software.

Results: Intraperitoneal injection of high doses of crack cocaine (15 mg/kg) significantly decreased parameters associated to the spatial memory on Days 3 and 4 of the experiments ($p < 0.01$). Intraperitoneal injection of 50 mg/kg vitamin C improved spatial memory in rats poisoned with crack ($p < 0.05$) with no effects on lipid peroxidation in hippocampus ($p > 0.05$).

Conclusion: Doses of vitamin C in this study were able to improve the spatial memory function of rats treated with crack cocaine to normal levels.

Keywords: Vitamin C, Crack cocaine, Spatial memory, Lipid peroxidation