

بررسی تأثیر تجویز طولانی اسید اسکوربیک بر اختلال حافظه ناشی از دیابت در موش صحرایی نر بالغ

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۱۰/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۱/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: اسید اسکوربیک، در چندین مدل تجربی سبب بهبود نواقص شناختی شده است. دیابت نیز موجب اختلالات یادگیری و حافظه‌ای می‌گردد. در این مطالعه به بررسی تجویز خوراکی اسید اسکوربیک (۱۰۰ mg/kg) به مدت ۳۰ روز بر حافظه و یادگیری احترازی غیر فعال در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی می‌پردازیم. **روش بررسی:** دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (۶۰ mg/kg) به حیوانات القاء شد. سه روز بعد، اگر گلوکز پلاسمای بیش از ۲۵۰ mg/dl اندازه‌گیری می‌شد، دیابت تأیید می‌شد. درمان از شروع هیپرگلیسمی به مدت ۳۰ روز ادامه یافت. یادگیری احترازی غیر فعال، در پایان درمان انجام شد و ۲۴ ساعت بعد از آن، تست حافظه صورت گرفت. در پایان حیوانات وزن شده و نمونه‌های خون برای اندازه‌گیری گلوکز جمع‌آوری شد. **یافته‌ها:** دیابت سبب اختلال در فرایند حافظه و یادگیری احترازی غیر فعال در حیوانات گردید. درمان با اسید اسکوربیک، سبب بهبود یادگیری و حافظه در موش‌های کنترل گردید و نواقص یادگیری و حافظه‌ای را در موش‌های دیابتی اصلاح کرد. در حیوانات دیابتی تحت درمان، کاهش وزن ($p < 0.05$) و هیپرگلیسمی ($p < 0.05$) نسبت به موش‌های دیابتی درمان نشده کمتر بود. اثرات هیپوگلیسمیک و یا آنتی اکسیدانی اسید اسکوربیک، احتمالاً در نتایج به‌دست آمده بر روی یادگیری و حافظه در دیابت تأثیر داشته‌اند. **نتیجه‌گیری:** تجویز اسید اسکوربیک به مدت ۳۰ روز از آغاز دیابت سبب حفاظت از اختلالات شناختی مرتبط با آن می‌شود. با انجام کارآزمایی‌های بالینی شاید بتوان از اسید اسکوربیک به‌عنوان یک مکمل همراه در بهبود اختلالات شناختی ناشی از دیابت استفاده کرد.

کلمات کلیدی: دیابت، اسید اسکوربیک، یادگیری، حافظه، موش صحرایی.

پریسا حسنین^{*۱}
سیامک شهیدی^۲

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه،
دانشگاه بوعلی سینای همدان
۲- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه
علوم پزشکی همدان

* نویسنده مسئول: همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده
علوم پایه، گروه زیست‌شناسی | تلفن: ۰۸۱۱۸۲۵۷۴۰۲
email: p.hasanein@basu.ac.ir

مقدمه

اخیراً، با توجه به عوارض جانبی متعدد داروهای شیمیایی موثر بر دستگاه عصبی، تمایل زیادی برای استفاده از عوامل طبیعی جهت درمان نواقص شناختی و یادگیری وجود دارد.^{۱،۲} به‌عنوان مثال، مشخص شده است که اسید اسکوربیک، اثرات مفیدی بر روند درمانس در بیماری آلزایمر دارد.^۳ همچنین سطوح پلاسمایی اسید اسکوربیک در بیماران مبتلا به دمانس در مقایسه با افراد کنترل کمتر بوده که این مسأله پیشنهادکننده اثر اسید اسکوربیک در حفاظت از اختلالات شناختی می‌باشد.^۴ همچنین اسید اسکوربیک به‌عنوان یک عامل طبیعی موثر بر تقویت حافظه در بیماران و نیز حیوانات مسن مطرح شده است.^۵ اثرات اسید اسکوربیک در بهبود اختلالات یادگیری و حافظه در چندین مدل تجربی مختلف نیز گزارش شده است.^{۶-۱۹} تاکنون، هیچ‌گونه مطالعه‌ای در مورد اثرات اسید

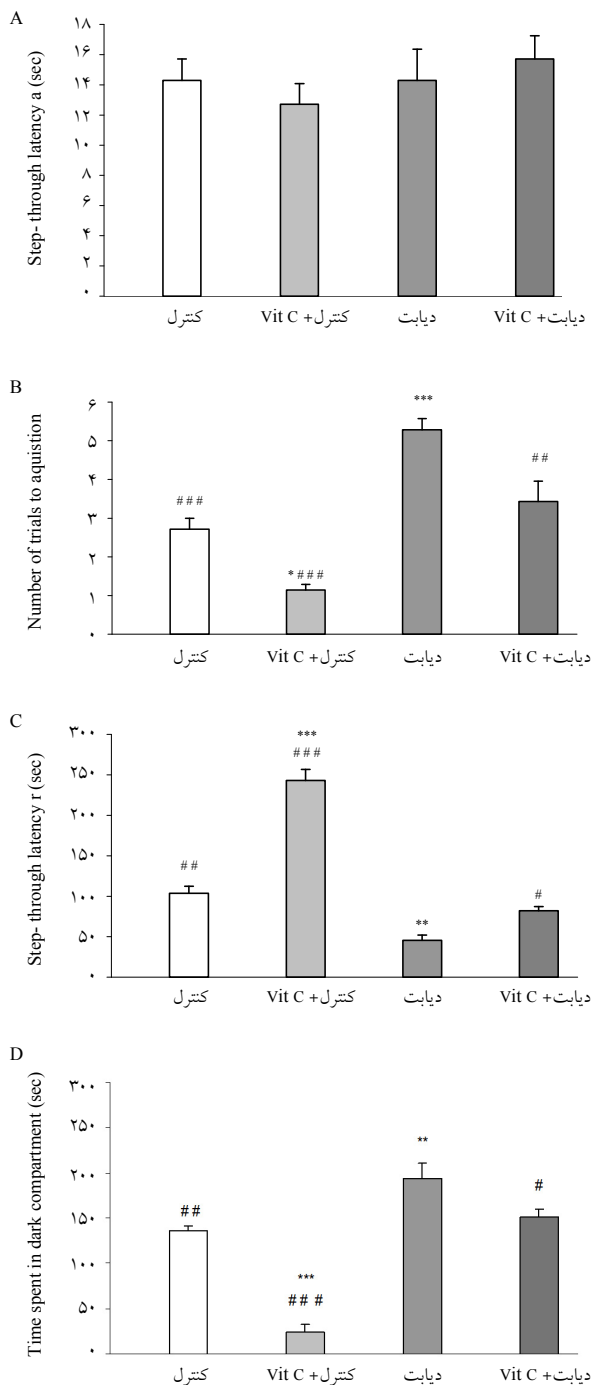
دیابت (Diabetes) یکی از شایع‌ترین اختلالات متابولیکی که با عوارض متعددی در اندام‌های گوناگون همراه است. عوارض نورولوژیک متعددی ناشی از دیابت در دستگاه عصبی مرکزی و محیطی رخ می‌دهد.^{۱،۲} وجود ضایعات ساختمانی و الکترو-فیزیولوژیکی مرکزی در افراد مبتلا به دیابت مشخص شده است.^{۳-۵} از دیگر عوارض عصبی مهم مرتبط با دیابت، وجود اختلالات یادگیری و حافظه‌ای می‌باشد. افراد مبتلا به دیابت در آزمون‌های شناختی دارای اختلالات متوسطی نسبت به گروه کنترل هستند.^{۶-۸} در دیابت القاء شده توسط استرپتوزوتوسین (STZ) که به‌عنوان مدل تجربی دیابت نوع I مورد استفاده زیادی قرار گرفته است، نیز اختلالات یادگیری و حافظه‌ای مطرح شده است.^{۹،۱۰} از طرفی

از حیوانات آزمایشگاهی است مورد تأیید قرار گرفته است. برای آزمون حافظه و یادگیری مدل احترازی غیرفعال دستگاه مورد استفاده یا دستگاه شاتل باکس (شرکت بهبود پرداز، تهران) و روش کار مشابه روش‌های استفاده شده در مطالعات قبلی منتشر شده ما می‌باشد.^{۲۱-۲۴} به‌طور کلی دستگاه یک جعبه پلکسی شامل دو قسمت روشن و تاریک هر یک به ابعاد (۳۰×۲۰×۲۰ cm) است. این دو بخش توسط یک دریچه گیوتینی به هم مرتبط هستند. کف دو بخش میله‌های فلزی که به قطر یک میلی‌متر و به فاصله یک سانتی‌متر از هم، قرار گرفته‌اند، وجود دارد و شوک الکتریکی از طریق همین میله‌ها در بخش تاریک به پای حیوان اعمال می‌شود. در ابتدا برای آشنایی حیوان با دستگاه، هر حیوان در قسمت روشن قرار گرفته و پس از پنج ثانیه که در بین دو قسمت باز می‌شد، طبق تمایل طبیعی به محیط تاریک، به قسمت تاریک می‌رفت. پس از بسته شدن درب و گذشت ۳۰ ثانیه از حضور در قسمت تاریک، حیوان خارج شده و دو دقیقه بعد این روش، تکرار می‌شد. جهت انجام آزمون یادگیری (Acquisition)، ۳۰ دقیقه بعد، موش در قسمت روشن قرار می‌گرفت و مدت زمان تأخیر تا ورود کامل به قسمت تاریک ثبت شده (Step-through latency، STLa) و بعد از ورود کامل، درب بین دو قسمت بسته شده و یک شوک الکتریکی ضعیف با شدت ۰/۵ میلی‌آمپر به مدت سه ثانیه به میله‌های کف محفظه تاریک وارد می‌شد. حیوان ۳۰ ثانیه بعد، از قسمت تاریک خارج می‌شد و مجدداً این روند پس از دو دقیقه تکرار می‌شد یعنی حیوان پس از ورود کامل به قسمت تاریک شوک دریافت می‌کرد. در صورتی که موش تا ۱۲۰ ثانیه از ورود به قسمت تاریک اجتناب می‌کرد، آزمون‌های یادگیری به پایان می‌رسید. به این ترتیب، تعداد آزمون‌هایی که هر حیوان قبل از اجتناب به ورود به قسمت تاریک، دریافت می‌کرد به‌عنوان شاخصی از یادگیری حیوان محسوب می‌شد. جهت انجام آزمون حافظه یا Retention، ۲۴ ساعت پس از آزمون یادگیری، موش در قسمت روشن قرار می‌گرفت و پنج ثانیه بعد درب بین دو قسمت باز می‌شد و تأخیر در ورود به قسمت تاریکی (Step-Through Latency (STLr) و زمان باقی ماندن در محفظه تاریک (The Time Spent in the Dark Compartment (TDC) سنجش و بین گروه‌ها مقایسه شد. در صورتی که، تا ۳۰۰ ثانیه موش از ورود به قسمت تاریک اجتناب می‌کرد، آزمون خاتمه می‌پذیرفت. همچنین اگر موش بیش از ۳۰۰ ثانیه در قسمت تاریک باقی می‌ماند،

اسکوربیک بر نواقص یادگیری و حافظه ناشی از دیابت وجود ندارد. با توجه به مطالب فوق و همچنین این‌که تاکنون درمان مشخصی برای کنترل اختلالات شناختی ناشی از دیابت مطرح نشده است،^{۲۰} در این مطالعه به بررسی اثر تجویز خوراکی اسید اسکوربیک بر اختلالات حافظه در دیابت، با آزمون حافظه و یادگیری مدل احترازی غیرفعال Passive Avoidance Learning (PAL) and Memory می‌پردازیم.

روش بررسی

در این مطالعه مداخله‌ای که در زمستان ۸۷ در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام پذیرفت، از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۸۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط محیط حیوان‌خانه با دسترسی کافی به آب و غذا، درجه حرارت ۲۴-۲۲ درجه سلسیوس و سیکل‌های روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته که از ساعت شش صبح شروع می‌شد، قرار داشتند. در هر گروه هشت حیوان قرار گرفت و در کل ۳۲ موش صحرایی برای این آزمایشات استفاده شد. در این مطالعه از استرپتوزوتوسین (STZ) و اسید اسکوربیک استفاده شد که هر دو از شرکت سیگما (Sigma chemical, st louis, MO, USA) تهیه شدند. استرپتوزوتوسین، به‌صورت داخل صفاقی و در حجم ۱ ml/kg به حیوانات تزریق گردید و اسید اسکوربیک، به‌صورت خوراکی به موش‌ها گاوژ گردید. در این مطالعه، موش‌ها با نمونه‌گیری تصادفی ساده، به گروه‌های کنترل (سالم)، دیابتی، کنترل+ اسید اسکوربیک و دیابتی+ اسید اسکوربیک تقسیم شدند. موش‌های گروه‌های دیابتی به‌طور تجربی با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (۶۰ mg/kg) دیابتی شدند و سه روز بعد از آن با سنجش گلوکز خون، موش‌هایی که میزان گلوکز خون آن‌ها بیش از ۲۰۰ mg/kg بود، به‌عنوان موش دیابتی در مطالعه استفاده شدند. به حیوانات گروه‌های کنترل و دیابتی به‌مدت یک‌ماه روزانه مقدار ۱۰۰ mg/kg اسید اسکوربیک توسط گاوژ خورانده شد. موش‌های دو گروه کنترل و دیابتی دیگر، در طی این مدت سالیان دریافت کردند. در انتهای دوره درمان با سالیان یا اسید اسکوربیک، هر یک از موش‌ها در آزمون حافظه و یادگیری احترازی غیرفعال مورد آموزش و ارزیابی قرار گرفتند. در پایان آزمایشات، حیوانات وزن شده و گلوکز خون اندازه‌گیری شد. این تحقیق، توسط کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی همدان که مطابق دستورالعمل جهانی حمایت



نمودار ۱: اثرات تجویز خوراکی اسید اسکوربیک به مدت ۳۰ روز بر آزمون حافظه و یادگیری احترازی غیرفعال. اثرات تجویز اسید اسکوربیک بر (A) STLa، تعداد آزمون‌های مورد نیاز برای یادگیری (B) STLa، (C) و زمان باقی‌ماندن در محفظه تاریک (D) در گروه‌های کنترل و دیابتی (n=8). * تفاوت با گروه کنترل (p<0/05)، ** تفاوت با گروه کنترل (p<0/01)، *** تفاوت با گروه کنترل (p<0/001)، # تفاوت با گروه دیابتی درمان نشده (p<0/05)، ## تفاوت با گروه دیابتی درمان نشده (p<0/01)، ### تفاوت با گروه دیابتی درمان نشده (p<0/001).

از قسمت تاریک خارج شده و به قفس منتقل می‌گردید. پس از بیهوشی حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین (60mg/kg)، نمونه‌های خونی به‌دست آمده توسط گردن زدن، برای اندازه‌گیری مقدار پلاسمایی گلوکز توسط کیت و اسپکتروفتومتر جمع‌آوری شد. تمام داده‌ها به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار میانگین (SEM) بیان گردید. برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها از آزمون آماری ANOVA یک‌طرفه و به‌دنبال آن تست Tukey استفاده شد. $p < 0/05$ به‌عنوان سطح آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اثر دیابت بر آزمون حافظه و یادگیری احترازی غیرفعال: قبل از دریافت شوک، زمان ورود به محفظه تاریک یا STLa بین گروه‌های دیابتی و کنترل تفاوت نداشت ($p > 0/05$) (نمودار ۱A). از طرفی تعداد آزمون‌های لازم برای یادگیری اجتناب از ورود به محفظه تاریک، در بین گروه دیابتی (5/28 \pm 0/28) و کنترل (2/71 \pm 0/2) تفاوت قابل توجهی داشت ($p < 0/001$) (نمودار ۲A). در تست حافظه، گروه دیابتی دارای کاهش یافته (45/42 \pm 6/5) و افزایش یافته‌ای (194 \pm 17/2) نسبت به گروه کنترل (135/5 \pm 6/3) بودند ($p < 0/01$, $p < 0/01$) (نمودار 3A، 4A).

اثر تجویز اسید اسکوربیک بر آزمون حافظه و یادگیری احترازی غیرفعال: نتایج آزمون واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوتی در STLa بین گروه‌های مختلف وجود ندارد ($p > 0/05$) (نمودار ۱A). تجویز اسید اسکوربیک (100mg/kg) به گروه کنترل، تعداد آزمون‌های لازم برای یادگیری اجتناب از ورود به محفظه تاریک، STLa و TDC را تغییر داد (نمودار ۱D و ۱C و ۱B). به این ترتیب که حیوانات کنترل دریافت‌کننده اسید اسکوربیک، تعداد آزمون‌های کمتری برای یادگیری نیاز داشتند ($p < 0/05$). همچنین این گروه دارای STLa افزایش یافته ($p < 0/01$) و TDC کاهش یافته‌ای ($p < 0/001$) نسبت به گروه کنترل درمان نشده با اسید اسکوربیک بودند (نمودار ۱D و ۱C و ۱B). تجویز اسید اسکوربیک به موش‌های دیابتی همچنین سبب تغییرات قابل توجهی در تعداد آزمون‌های لازم برای یادگیری اجتناب از ورود به محفظه تاریک ($p < 0/01$)، STLa ($p < 0/05$) و TDC ($p < 0/05$) را تغییر داد (نمودار ۱D و ۱C و ۱B). علاوه بر این، گروه دیابتی درمان شده با اسید اسکوربیک و گروه کنترل درمان نشده،

جدول ۱: وزن و سطح گلوکز در ابتدا و انتهای آزمایش در گروه‌های مختلف

گروه	وزن بدن (گرم)		گلوکز پلاسما (mg/dl)	
	شروع	پایان	شروع	پایان
کنترل	272 ± 2	311 ± 5	68/4 ± 3/6	90 ± 8/7
کنترل + Vit C	271 ± 1	318 ± 7	85/1 ± 6/3	94/4 ± 7
دیابت	271 ± 4	213 ± 9*	94 ± 6/9	385/6 ± 8/7*
دیابت + Vit C	264 ± 3	247 ± 10**	93/7 ± 8/2	351 ± 9**

* تفاوت با گروه کنترل ($p < 0/001$). تفاوت با گروه دیابتی درمان نشده ($p < 0/05$)

تفاوت قابل ملاحظه‌ای نداشتند (نمودار ۱D و ۱C و ۱B).

اثر تجویز اسید اسکوربیک بر وزن بدن و گلوکز پلاسما: همان‌گونه که در جدول ۱ نشان داده شده، وزن بدن و گلوکز پلاسما بین گروه‌های مختلف در ابتدای آزمایش (قبل از القاء دیابت) تفاوتی نداشت. گروه دیابتی درمان نشده در انتهای آزمایش، دارای وزن کاهش یافته ($p < 0/001$) و سطوح گلوکز افزایش یافته‌ای ($p < 0/001$) نسبت به گروه کنترل درمان نشده بودند. تجویز اسید اسکوربیک به موش‌های گروه کنترل، تأثیری بر وزن بدن یا گلوکز پلاسما نداشت. تجویز اسید اسکوربیک به موش‌های دیابتی سبب افزایش قابل توجهی در وزن بدن نسبت به گروه دیابتی درمان نشده گردید ($p < 0/05$). هرچند تفاوت آماری معنی داری در وزن بدن بین گروه دیابتی درمان شده با اسید اسکوربیک با گروه کنترل درمان نشده وجود داشت. تجویز اسید اسکوربیک به حیوانات دیابتی، گلوکز پلاسما را نسبت به حیوانات دیابتی درمان نشده کاهش داد ($p < 0/05$) (جدول ۱).

بحث

در این مطالعه نشان داده شد که تجویز خوراکی اسید اسکوربیک به مدت ۳۰ روز به طور قابل توجهی سبب بهبود حافظه و یادگیری احترازی غیرفعال در موش‌های کنترل گردید و همچنین انجام چنین درمانی از آغاز دیابت سبب رفع شدن اثرات منفی دیابت بر روی یادگیری و حافظه شد. در واقع، کاهش تعداد آزمون‌های لازم برای اجتناب از دریافت شوک نشان‌دهنده بهبود یادگیری است. افزایش STLI و کاهش TDC نیز مبین اثرات مثبت بر فرایند حافظه می‌باشد.^{۱۳ و ۲۵} بهبود حافظه و یادگیری در اثر اسید اسکوربیک، همچنین در چندین مطالعه منتشر شده قبلی نیز گزارش شده است.^{۱۶-۱۹} اسید اسکوربیک یک آنتی‌اکسیدان مهم است که با غلظت

بالایی در دستگاه عصبی مرکزی وجود دارد.^{۲۶ و ۲۷} عمل این ویتامین در پیشگیری از اختلالات حافظه‌ای ناشی از پیری را احتمالاً به اثر آنتی‌اکسیدانی آن مربوط دانسته‌اند.^{۱۶ و ۱۹ و ۲۸} بنابراین در مطالعه اخیر، نیز اثر آنتی‌اکسیدانی اسید اسکوربیک ممکن است در بهبود عملکرد یادگیری و حافظه نقش داشته باشد. از سوی دیگر، اسید اسکوربیک اثرات تعدیل‌کنندگی بر فعالیت سیستم‌های کولینرژیک، سروتونرژیک و دوپامینرژیک مغزی دارد.^{۲۵ و ۲۷ و ۲۸} این سیستم‌های نوروترانسمیتری نقش شناخته شده‌ای در یادگیری و حافظه دارند. بنابراین، بخشی از اثرات اسید اسکوربیک بر فرایند یادگیری و حافظه در این مطالعه نیز شاید مربوط به تعدیل فعالیت این سیستم‌های نوروترانسمیتری باشد. در مطالعه اخیر، موش‌های دیابتی دارای اختلال یادگیری و حافظه نسبت به گروه کنترل بودند. نواقص یادگیری و حافظه، در دیابت قبلاً نیز در مطالعات انسانی و جانوری نشان داده شده است.^{۱۰ و ۲۵ و ۲۶ و ۲۷} اما مطالعه ما نشان داد که مکمل اسید اسکوربیک، به مدت ۳۰ روز از ابتدای تشخیص دیابت، می‌تواند این اختلالات را معکوس نماید. تجویز اسید اسکوربیک بر وزن بدن و گلوکز پلاسما حیوانات کنترل درمان شده، اثری ندارد اما موش‌های دیابتی درمان نشده با اسید اسکوربیک به طور قابل توجهی دارای کاهش وزن‌های کمتر و سطوح گلوکز کاهش یافته‌ای نسبت به گروه دیابتی درمان نشده بودند. این نتایج با اثرات گزارش شده اسید اسکوربیک بر بهبود کاهش وزن و هیپرگلیسمی در حیوانات دیابتی مطابقت دارد.^{۲۹} اگرچه پاتوژنز اختلالات یادگیری و حافظه در دیابت هنوز به طور کامل مشخص نشده است، اما چندین عامل از جمله اختلالات متابولیکی، عروقی و نیز استرس اکسیداتیو در بروز آن مطرح شده است.^{۳۰ و ۳۱ و ۳۲ و ۳۳} نقش احتمالی این عوامل در تفسیر نتایج حاضر در زیر شرح داده شده است: هیپرگلیسمی، عامل اصلی بسیاری از عوارض دیابتی است. در واقع، هیپرگلیسمی مزمن در دیابت منجر به اختلالات شناختی می‌شود.^{۳۰} هیپرگلیسمی در بیماران دیابتی نوع I همچنین با اختلالات یادگیری مرتبط دانسته شده است.^{۳۳-۳۴} بنابراین، اصلاح اختلال یادگیری در مطالعه اخیر توسط اسید اسکوربیک، احتمالاً می‌تواند مربوط به اثر آن در تخفیف هیپرگلیسمی در موش‌های دیابتی باشد. اختلال در عروق مغزی در دیابت نیز در پاتوفیزیولوژی اختلالات شناختی مربوط به این بیماری مطرح شده است.^{۳۵ و ۳۶ و ۳۷} از طرفی، طبق مطالعات قبلی، مکمل اسید اسکوربیک اختلال در

نواقص شناختی ناشی از دیابت موثر شناخته شده است.^{۴۰} از طرفی مشخص شده که اسید اسکوربیک، بر فعالیت سیستم کولینرژیک مغزی اثر تعدیلی دارد.^{۲۰،۴۴} همچنین مکمل اسید اسکوربیک، موجب حفظ فعالیت آنزیم کولین استراز مغزی در سطوح طبیعی می‌شود.^{۴۴} بخشی از اثرات اسید اسکوربیک بر فرایند یادگیری و حافظه در این مطالعه شاید مربوط به اثرات آن در تعدیل فعالیت سیستم کولینرژیک باشد. تجویز مزمن اسید اسکوربیک به مدت ۳۰ روز از آغاز دیابت سبب حفاظت از اختلالات شناختی مرتبط با آن می‌شود. در مقایسه با سایر داروهای محرک حافظه، ویتامین‌ها دارای عوارض جانبی بسیار کمتری می‌باشند، بنابراین با انجام کارآزمایی‌های بالینی و تأیید اثرات اسید اسکوربیک شاید بتوان از آن به‌عنوان یک داروی همراه در بهبود اختلالات شناختی ناشی از دیابت استفاده کرد.

عملکرد عروقی در دیابت را اصلاح می‌کند. بنابراین، این مکانیسم شاید در اثرات اسید اسکوربیک در این مطالعه بر بهبود عملکرد حافظه‌ای نقش داشته باشد. آسیب اکسیداتیو، با اختلالات شناختی ارتباط دارد.^{۳۷،۳۶،۱۰} و درمان با آنتی‌اکسیدان‌ها به‌عنوان یک روش درمانی در چندین بیماری نورودژنراتیو مطرح شده است.^{۱۱،۱۲} از آنجا که استرس اکسیداتیو نقش مهمی در اختلالات حافظه‌ای مرتبط با دیابت دارد.^{۳۸-۴۰} ویژگی آنتی‌اکسیدانی اسید اسکوربیک می‌تواند در اثرات مثبت آن در درمان مزمن موش‌های دیابتی در مطالعه اخیر نقش داشته باشد. به تازگی، اختلال در عملکرد سیستم کولینرژیک مغزی در موش‌های صحرایی دیابتی، به دلیل افزایش فعالیت آنزیم کولین استراز گزارش شده است.^{۴۱،۴۲} از آنجا که سیستم کولینرژیک نقش مهمی در فرایند یادگیری و حافظه دارد^{۴۳،۴۲} این اختلال عملکرد در

References

- Kucukatay V, Açar A, Gumuslu S, Yargıçoğlu P. Effect of sulfur dioxide on active and passive avoidance in experimental diabetes mellitus: relation to oxidant stress and antioxidant enzymes. *Int J Neurosci* 2007;117(8):1091-107.
- Artola A, Kamal A, Ramakers GM, Biessels GJ, Gispen WH. Diabetes mellitus concomitantly facilitates the induction of long-term depression and inhibits that of long-term potentiation in hippocampus. *Eur J Neurosci* 2005;22(1):169-78.
- Lupien SB, Bluhm EJ, Ishii DN. Systemic insulin-like growth factor-I administration prevents cognitive impairment in diabetic rats, and brain IGF regulates learning/memory in normal adult rats. *J Neurosci Res* 2003;74(4):512-23.
- Reske-Nielsen E, Lundbaek K, Rafaelsen O. Pathological changes in the central and peripheral nervous system of young long-term diabetics. Diabetic Encephalopathy. *Diabetologia* 1965;1:233-41.
- Di Luca M, Ruts L, Gardoni F, Cattabeni F, Biessels GJ, Gispen WH. NMDA receptor subunits are modified transcriptionally and post-translationally in the brain of streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 1999;42(6):693-701.
- Reaven GM, Thompson LW, Nahum D, Haskins E. Relationship between hyperglycemia and cognitive function in older NIDDM patients. *Diabetes Care* 1990;13(1):16-21.
- Ryan CM. Neurobehavioral complications of type I diabetes. Examination of possible risk factors. *Diabetes Care* 1988;11(1):86-93.
- Tun PA, Nathan DM, Perlmutter LC. Cognitive and affective disorders in elderly diabetics. *Clin Geriatr Med* 1990;6(4):731-46.
- Patil CS, Singh VP, Kulkarni SK. Modulatory effect of sildenafil in diabetes and electroconvulsive shock-induced cognitive dysfunction in rats. *Pharmacol Rep* 2006;58(3):373-80.
- Tuzcu M, Baydas G. Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and memory impairment in rats. *Eur J Pharmacol* 2006;537(1-3):106-10.
- Ahmad M, Saleem S, Ahmad AS, Yousuf S, Ansari MA, Khan MB, et al. Ginkgo biloba affords dose-dependent protection against 6-hydroxydopamine-induced parkinsonism in rats: neurobehavioural, neurochemical and immunohistochemical evidences. *J Neurochem* 2005;93(1):94-104.
- Ansari MA, Ahmad AS, Ahmad M, Salim S, Yousuf S, Ishrat T, et al. Selenium protects cerebral ischemia in rat brain mitochondria. *Biol Trace Elem Res* 2004;101(1):73-86.
- Landmark K. Could intake of vitamins C and E inhibit development of Alzheimer dementia? *Tidsskr Nor Laegeforen* 2006;126(2):159-61.
- Charlton KE, Rabinowitz TL, Geffen LN, Dhansay MA. Lowered plasma vitamin C, but not vitamin E, concentrations in dementia patients. *J Nutr Health Aging* 2004;8(2):99-107.
- Levine M, Rumsey SC, Daruwala R, Park JB, Wang Y. Criteria and recommendations for vitamin C intake. *JAMA* 1999;281(15):1415-23.
- Cho J, Kang JS, Long PH, Jing J, Back Y, Chung KS. Antioxidant and memory enhancing effects of purple sweet potato anthocyanin and cordyceps mushroom extract. *Arch Pharm Res* 2003;26(10):821-5.
- Delwing D, Bavaresco CS, Monteiro SC, Matté C, Netto CA, Wyse AT. alpha-Tocopherol and ascorbic acid prevent memory deficits provoked by chronic hyperprolinemia in rats. *Behav Brain Res* 2006;168(2):185-9.
- Monteiro SC, Matté C, Bavaresco CS, Netto CA, Wyse AT. Vitamins E and C pretreatment prevents ovariectomy-induced memory deficits in water maze. *Neurobiol Learn Mem* 2005;84(3):192-9.
- Reis EA, Zugno AI, Franzon R, Tagliari B, Matté C, Lammers ML, et al. Pretreatment with vitamins E and C prevent the impairment of memory caused by homocysteine administration in rats. *Metab Brain Dis* 2002;17(3):211-7.
- Biessels GJ, Kerksen A, de Haan EH, Kappelle LJ. Cognitive dysfunction and diabetes: implications for primary care. *Prim Care Diabetes* 2007;1(4):187-93.
- Lashgari R, Motamedi F, Zahedi Asl S, Shahidi S, Komaki A. Behavioral and electrophysiological studies of chronic oral administration of L-type calcium channel blocker verapamil on learning and memory in rats. *Behav Brain Res* 2006;171(2):324-8.
- Shahidi S, Motamedi F, Bakeshloo SA, Taleghani BK. The effect of reversible inactivation of the supramammillary nucleus on passive avoidance learning in rats. *Behav Brain Res* 2004;152(1):81-7.
- Shahidi S, Komaki A, Mahmoodi M, Atrvash N, Ghodrati M. Ascorbic acid supplementation could affect passive avoidance

- learning and memory in rat. *Brain Res Bull* 2008;76(1-2):109-13.
24. Shahidi S, Komaki A, Mahmoodi M, Lashgari R. The role of GABAergic transmission in the dentate gyrus on acquisition, consolidation and retrieval of an inhibitory avoidance learning and memory task in the rat. *Brain Res* 2008;1204:87-93.
 25. Baydas G, Nedzvetskii VS, Nerush PA, Kirichenko SV, Yoldas T. Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Life Sci* 2003;73(15):1907-16.
 26. Barabás J, Nagy E, Degrell I. Ascorbic acid in cerebrospinal fluid - a possible protection against free radicals in the brain. *Arch Gerontol Geriatr* 1995;21(1):43-8.
 27. Cooper JR. The role of ascorbic acid in the oxidation of tryptophan to 5- hydroxytryptophan. *Ann NY Acad Sci* 1961;21:208-11.
 28. Castagné V, Rougemont M, Cuenod M, Do KQ. Low brain glutathione and ascorbic acid associated with dopamine uptake inhibition during rat's development induce long-term cognitive deficit: relevance to schizophrenia. *Neurobiol Dis* 2004;15(1):93-105.
 29. Al Shamsi MS, Amin A, Adeghate E. The effects of vitamin C on the metabolic parameters of experimental diabetes mellitus. *Am J Pharmacol Toxicol* 2007;2:4-9.
 30. Stewart R, Liolitsa D. Type 2 diabetes mellitus, cognitive impairment and dementia. *Diabet Med* 1999;16(2):93-112.
 31. Tüma I. Diabetes mellitus and cognitive impairments. *Vnitř Lek* 2007;53(5):486-8.
 32. Brands AM, Biessels GJ, de Haan EH, Kappelle LJ, Kessels RP. The effects of type 1 diabetes on cognitive performance: a meta-analysis. *Diabetes Care* 2005;28(3):726-35.
 33. Holmes CS. Neuropsychological profiles in men with insulin-dependent diabetes. *J Consult Clin Psychol* 1986;54(3):386-9.
 34. Ryan CM, Williams TM. Effects of insulin-dependent diabetes on learning and memory efficiency in adults. *J Clin Exp Neuropsychol* 1993;15(5):685-700.
 35. van Deutekom AW, Niessen HW, Schalkwijk CG, Heine RJ, Simsek S. Increased Nepsilon-(carboxymethyl)-lysine levels in cerebral blood vessels of diabetic patients and in a (streptozotocin-treated) rat model of diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol* 2008;158(5):655-60.
 36. Fukui K, Omoi NO, Hayasaka T, Shinnkai T, Suzuki S, Abe K, et al. Cognitive impairment of rats caused by oxidative stress and aging, and its prevention by vitamin E. *Ann N Y Acad Sci* 2002;959:275-84.
 37. Fukui K, Onodera K, Shinkai T, Suzuki S, Urano S. Impairment of learning and memory in rats caused by oxidative stress and aging, and changes in antioxidative defense systems. *Ann N Y Acad Sci* 2001;928:168-75.
 38. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991;40(4):405-12.
 39. Kakkar R, Kalra J, Mantha S, Prasad K. Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Mol Cell Biochem* 1995;151(2):113-9.
 40. Tiwari V, Kuhad A, Bishnoi M, Chopra K. Chronic treatment with tocotrienol, an isoform of vitamin E, prevents intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive impairment and oxidative-nitrosative stress in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2009;93(2):183-9.
 41. Sonkusare S, Srinivasan K, Kaul C, Ramarao P. Effect of donepezil and lercanidipine on memory impairment induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats. *Life Sci* 2005;77(1):1-14.
 42. Hasselmo ME. The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol* 2006;16(6):710-5.
 43. Myhrer T. Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: a meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. *Brain Res Brain Res Rev* 2003;41(2-3):268-87.
 44. Lee L, Kang SA, Lee HO, Lee BH, Jung IK, Lee JE, Hoe YS. Effect of supplementation of vitamin E and vitamin C on brain acetyl cholinesterase activity and neurotransmitter levels in rats treated with scopolamine, an inducer of dementia. *J Nutr Sc. Vitaminol (Tokyo)* 2001;47:323-8.

The effect of long term administration of ascorbic acid on the learning and memory deficits induced by diabetes in rat

Received: January 09, 2010 Accepted: February 08, 2010

Abstract

Parisa Hasanein Ph.D.^{1*}
Siamak Shahidi Ph.D.²

1- Department of Biology, School of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran

2- Department of Physiology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Background: Ascorbic acid improves cognitive impairments in several experimental models. Diabetes causes learning and memory deficits. In this study we hypothesized that chronic treatment with ascorbic acid (100mg/kg, p.o) would affect on the passive avoidance learning (PAL) and memory in control and streptozocin-induced diabetic rats.

Methods: Diabetes was induced by a single i.p. injection of STZ (60mg/kg). The rats were considered diabetic if plasma glucose levels exceeded 250mg/dl on three days after STZ injection. Treatment was begun at the onset of hyperglycemia. PAL was assessed 30 days later. Retention test was done 24 h after training. At the end, animals were weighted and blood samples were drawn for plasma glucose measurement.

Results: Diabetes caused impairment in acquisition and retrieval processes of PAL and memory in rats. Ascorbic acid treatment improved learning and memory in control rats and reversed learning and memory deficits in diabetic rats. Ascorbic acid administration also improved the body weight loss and hyperglycemia of diabetics. Hypoglycemic and antioxidant properties of the vitamin may be involved in the memory improving effects of such treatment.

Conclusion: These results show that ascorbic acid administration to rats for 30 days from onset of diabetes alleviated the negative influence of diabetes on learning and memory. Comparing with other nootropic drugs, vitamins have fewer side effects. Therefore, this regimen may provide a new potential alternative for prevention of the impaired cognitive functions associated with diabetes after confirming by clinical trials.

Keywords: Diabetes mellitus, ascorbic acid, memory, learning, rat.

* Corresponding author: Dept. of Biology, School of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
Tel: +98-811-8257402
email: p.hasanein@basu.ac.ir