

## تأثیر ویتامین E و C در جلوگیری از سمیت عصبی سرب در حافظه فضایی موش صحرایی نر نژاد ویستار

حدیثه قره باغی<sup>۱</sup>، ایرج صالحی<sup>۲</sup>، سیامک شهیدی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران، <sup>۲</sup>مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۲/۱۲/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۳/۱۲

### چکیده

**زمینه و هدف:** استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌های مولکولی احتمالی در سمیت عصبی با واسطه سرب است و از طرف دیگر ویتامین های E و C دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی می‌باشند. هدف این مطالعه بررسی اثر محافظتی این دو ویتامین بر اثرات ناشی از سمیت سرب بر قابلیت یادگیری بود.

**روش بررسی:** این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی بر روی ۳۲ سر موش نر نژاد ویستار در گروه‌های یکسان ۸ تایی شامل گروه کنترل بدون دریافت سرب و ویتامین، گروه دریافت کننده آب دارای سرب (۰/۲ درصد)، گروه دریافت کننده آب دارای سرب به همراه ویتامین C و گروه دریافت کننده آب دارای سرب به همراه ویتامین E انجام شد. مواد به صورت روزانه به وسیله گاواژ و به مدت ۳ ماه توسط موش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. برای بررسی حافظه فضایی از دستگاه ماز آبی موریس استفاده شد. شاخص‌های یادگیری و حافظه فضایی به روش آنالیز واریانس بررسی شد.

**یافته:** زمان طی شده برای یافتن سکو (ثانیه) در مرحله آموزش در گروه های سرب همراه با ویتامین E و سرب همراه با ویتامین C کمتر از گروه سرب بود. همچنین در تست به خاطرآوری و تست حافظه کاری هم گروه‌های سرب همراه با ویتامین E و سرب همراه با ویتامین C، تفاوت معنی‌داری را به ترتیب در درصد زمان طی شده در ربع هدف و میانگین زمان طی شده برای یافتن سکو (ثانیه) در روز چهارم با گروه سرب داشتند ( $p < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** قرار گرفتن در معرض سرب باعث کاهش یادگیری و حافظه فضایی می‌شود و استفاده هم‌زمان سرب و ویتامین C و همچنین سرب و ویتامین E اثرات مخرب سرب بر حافظه فضایی را کاهش می‌دهد.

**واژه‌های کلیدی:** سرب، ویتامین E، ویتامین C، حافظه و یادگیری، رت

\*نویسنده مسئول: حدیثه قره باغی، همدان، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان

Email: h.gharehbaghi@yahoo.com

## مقدمه

نواحی مختلف مغزی در یادگیری و حافظه دخالت دارند. یکی از نواحی مغزی مورد توجه در ارتباط با عملکرد حافظه و یادگیری هیپوکامپ است. این ساختار مغزی نقش اساسی در پردازش اطلاعات فضایی دارد (۱).

راه اصلی جذب سرب از طریق دستگاه گوارش و سیستم تنفسی است. در زمینه عوارض سمی سرب بیش از یک صد سال است که تحقیقات وسیعی انجام گرفته می شود. این تحقیقات آثاری چون کاهش قدرت یادگیری، حافظه، ضایعات کلیوی و کبدی (۲)، کاهش انتقال پیام عصبی (۳)، تخریب غشای میلین و سلول شوان در اعصاب محیطی (۴) را ذکر نموده اند.

محققان بررسی های زیادی را در زمینه اثرات مواجهه با سرب روی اندام های مختلف بدن از جمله مغز و یادگیری و حافظه انجام داده اند و به نتایج گوناگونی رسیده اند که مواجهه با سرب باعث اختلال در ساختمان غشای سلولی از جمله تخریب گیرنده های NMDA<sup>(۱)</sup> موجود در غشاء سلول، تغییر در کانال های سدیمی دریچه دار وابسته به ولتاژ (۵) و اختلال در حافظه و یادگیری می شود (۶).

همچنین محققان اثرات مواجهه با سرب را به کمک ماز آبی موریس بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که مواجهه با سرب، البته فقط در دوران جنینی، اثری بر روی حافظه و یادگیری زادگان ندارد، اما اگر این زادگان در دوران شیرخوارگی و بعد از آن

نیز سرب را از راه شیر مادر و آب خوراکی دریافت کنند در این صورت تخریب در حافظه و یادگیری فضایی دیده می شود (۷).

مکانیسم های متعددی برای سمیت عصبی سرب بیان شده است، که یکی از تئوری های نحوه اثر توکسیک سرب را از طریق به هم زدن تعادل پرواکسیدان به آنتی اکسیدان مطرح می کنند (۲). همچنین مشخص شده است که سرب از سد خونی مغزی عبور کرده و در مغز تجمع می یابد. مکانیسم های سمیت عصبی سرب پیچیده بوده و هنوز کاملاً شناخته شده نیستند، ولی یافته های جدید نشان داده اند که رسپتورهای N-متیل نوروترانسسمیترها هدف حمله سرب هستند. سرب روی آسپاراتات که نوعی رسپتور گلوتامات است اثر گذاشته و سیستم یادگیری و شناخت را درگیر می کند (۲).

همچنین در حیوانات ثابت شده است که محور هیپوتالاموس - هیپوفیز، تنظیم گلوکوکورتیکوئیدها، سیستم های دوپامینرژیک و گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) تحت تأثیر سرب قرار می گیرند (۸). سرب بر روی حافظه، توجه، قدرت حل مسئله و برنامه ریزی تأثیر می گذارد (۸).

ویتامین E و C جزء آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی هستند. ویتامین C به عنوان یکی از آنتی اکسیدان های طبیعی، می تواند بدن را در برابر سمیت القا شده ناشی از سرب محافظت کند (۸). ویتامین C ممکن است در جذب و دفع سرب مؤثر

1- N-Methyl-D-aspartate

رت‌های با کمبود ویتامین E بیشتر دیده شده است. به بیان دیگر کمبود ویتامین E همچون افزایش سن، باعث کاهش توانایی یادگیری و حافظه شده است (۱۳).

مطالعه‌ها نشان می‌دهد که در کاهش حافظه به دنبال استرس مزمن و متناوب، می‌توان مصرف ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی هم‌چون E و C را به عنوان اهداف درمانی جدی برای جلوگیری از اختلال عملکردی دیده شده در چنین شرایطی در نظر گرفت (۱۴).

از آنجا که در مطالعه‌های قبلی عمدتاً مؤید اثر منفی سرب بر پارامترهای یادگیری و حافظه هستند و همچنین مشخص شده که آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل ویتامین E و ویتامین C تا حدودی اثرات منفی سرب را کاهش می‌دهند، لذا هدف از این مطالعه تأثیر ویتامین‌های E و C در جلوگیری از اثرات سمیت عصبی سرب در حافظه فضایی موش صحرایی نر بود.

#### روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۳۲ سر موش صحرایی نر با وزن ۱۸۰-۲۰۰ گرم خریداری شده از انستیتو پاستور استفاده شد و حیوانات به طور تصادفی در گروه‌های ۸ تایی قرار گرفتند. حیوانات محدودیتی در دسترسی به آب و غذا نداشتند و در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با درجه حرارت  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. رت‌های مورد استفاده در آزمایشگاه به صورت

باشد، این تأثیر در نمونه‌هایی که در معرض مقادیر کم سرب با مقدار زیاد مکمل ویتامین C قرار داشته‌اند مشهودتر می‌باشد (۱۰).

اسیداسکوربیک یک فاکتور کمکی برای آنزیم‌هایی است که در سنتز کلاژن و کارنی تین نقش دارند. اگرچه مکانیسم عمل ویتامین C در حمایت نورونی هنوز مشخص نیست، ولی مشاهده شده که اسید اسکوربیک در ممانعت از آثار تخریبی استرس اکسیداتیو بر سلول نقش دارد (۱۱).

همچنین در مواجهه با سرب، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های اگزوژن می‌تواند بخش عمده‌ای از آسیب‌های سلولی ناشی از استرس اکسیداتیو را خنثی کند. در این رابطه نشان داده شده است که ویتامین C به عنوان یکی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، می‌تواند بدن را در برابر سمیت القا شده ناشی از سرب محافظت کند (۹).

اخیراً در مطالعه‌های انجام شده در زمینه ویتامین E دیده شده است که محرومیت از خواب باعث کاهش حافظه در رت می‌شود و درمان با ویتامین E از طریق عمل آنتی‌اکسیدانی آن در هیپوکامپ سبب جلوگیری از این تخریب می‌شود (۱۲).

همچنین شواهد نشان داده است که در شرایط استرس اکسیداتیو که ممکن است روی تخریب حافظه و یادگیری اثر داشته باشد سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به خصوص با افزایش سن دچار تغییر می‌شود، در چنین وضعیتی توانایی یادگیری در رت‌های جوان نسبت به رت‌های مسن و همچنین

۴ تایی در قفس‌های جداگانه نگهداری گردیدند. گروه‌های مورد بررسی عبارتند از؛ اول بدون دریافت سرب و ویتامین (گروه کنترل)، دوم دریافت کننده آب دارای سرب ۰/۲ درصد به صورت روزانه به همراه آب خوراکی به مدت سه ماه، سوم دریافت کننده آب دارای سرب به همراه ویتامین C (با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت روزانه به وسیله گاوژ به مدت سه ماه و چهارم دریافت کننده آب دارای سرب به همراه ویتامین E (با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت روزانه به وسیله گاوژ به مدت سه ماه صورت گرفت.

دستگاه ماز آبی یک مخزن فلزی با پوشش سیاه رنگ به قطر ۱۸۰ و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر است که تا عمق ۲۰ سانتی‌متری آن، آب با دمای  $22 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد ریخته شد. یک سکوی مدور پنهان به قطر ۱۲ سانتی‌متر در یک سانتی‌متری زیر سطح آب قرار داشت. سکوی فوق در مرکز یکی از ربع‌های فرضی شمال شرقی، جنوب شرقی، شمال غربی و یا جنوب غربی مخزن قرار داده می‌شد. این سکوی پنهان تنها راه نجات و فرار حیوان از آب درون مخزن بود. اتاقی که ماز آبی در آن قرار داشت حاوی علائم خارج مازی نظیر علائم ترسیمی و سایر وسایل موجود بود. وظیفه حیوان در این ماز، پیدا کردن سکوی پنهان از روی علائم و نشانه‌های خارج مازی می‌باشد.

حرکت حیوان به وسیله یک دوربینی که در بالای مخزن نصب شده بود ردیابی و تشخیص داده می‌شد. سیگنال تلویزیونی به فرم دیجیتالی درآمده و

وارد یک سیستم ردیابی رایانه‌ای شده و امکان ثبت مسیر شنای حیوان در هر بار آموزش فراهم بود. در فاز سازش یافتن به منظور عادت دادن موش‌ها به ماز، ۲۴ ساعت قبل از آموزش موش‌ها به مدت یک دقیقه در مخزن فاقد سکو قرار داده می‌شدند تا شنا کنند. سپس در هر تریال از فاز آموزش حیوان به طور تصادفی و به انتخاب رایانه از یکی از ۴ نقطه اصلی مخزن (شمال، جنوب، شرق، غرب) به داخل آب رها می‌شد. موش آنقدر شنا می‌کرد تا سکوی پنهان را پیدا کرده و روی آن قرار گیرد. در صورت پیدا نکردن صفحه در مدت ۶۰ ثانیه، حیوان با دست به طرف سکو هدایت می‌شد و به وی اجازه داده می‌شد که به مدت ۳۰ ثانیه روی آن باقی بماند. بعد از آخرین آموزش، موش با حوله خشک و به قفس برگردانده می‌شد.

موش‌ها ۸ بار در روز طی دو بلوک ۴ تایی، برای ۳ روز متوالی آموزش دیدند. در تست به خاطر آوری<sup>(۱)</sup> در هنگام انجام آزمون حافظه (روز چهارم) سکوی پنهان از مخزن برداشته می‌شود و موش‌ها از نقطه شروع به داخل آب رها و حرکت آنها (درصد زمانی را که آنها در هر ربع دایره مخزن می‌گذشتند) برای مدت ۶۰ ثانیه ثبت می‌شد.

تست حافظه کاری فضایی<sup>(۲)</sup> دارای ۲ فاز می‌باشد؛ در فاز آموزش حیوان باید سکو را که در یک جای جدید قرار می‌گرفت پیدا می‌کرد و به او اجازه داده می‌-

1-Probe Trial  
2- Working Memory

در بررسی درصد زمان طی شده در ربع هدف در روز چهارم در تست به خاطر آوری که به روش آنالیز واریانس یکطرفه بین چهار گروه انجام شد، مشخص گردید که گروهی که سرب مصرف کرده بودند درصد زمان کمتری را نسبت به گروه‌های دیگر در ربع هدف گذرانده‌اند که این امر نیز بیانگر اثرات مخرب سرب بر حافظه فضایی می‌باشد(نمودار ۲)(جدول ۳).

همچنین در بررسی میانگین زمان طی شده برای یافتن سکو(ثانیه) در تست حافظه‌کاری فضایی در روز چهارم که به روش آنالیز واریانس یکطرفه بین چهار گروه انجام شد مشخص گردید که گروهی که سرب مصرف کرده بودند، زمان بیشتری را برای یافتن سکو صرف کرده‌اند(نمودار ۳)(جدول ۴).

### بحث

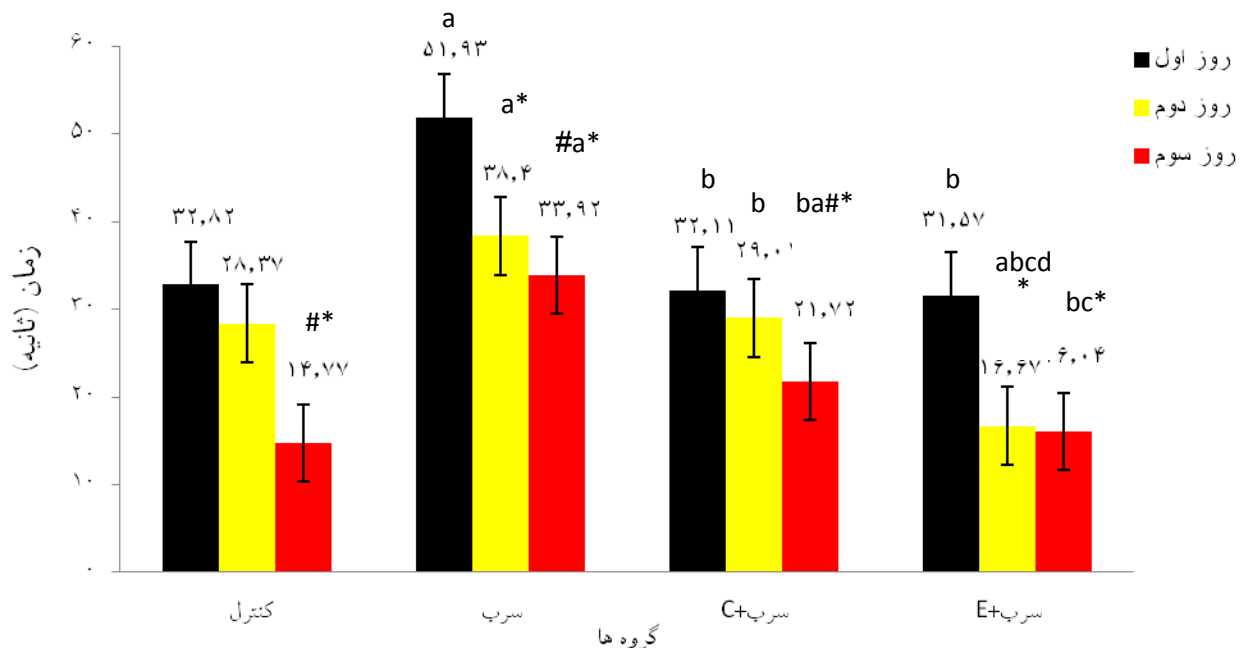
عوارض زیان بار مسمومیت با سرب از زمان‌های قدیم به خوبی شناخته شده است(۲). در زمینه عوارض سمی سرب بیش از یک صد سال است که تحقیقات وسیعی انجام گرفته است. این تحقیق‌ها آثاری چون کاهش قدرت یادگیری و حافظه و ضایعات کلیوی و کبدی(۲) و کاهش انتقال پیام عصبی(۳) را ذکر نمود و ویتامین C یکی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است که می‌تواند بدن را در برابر سمیت القا شده ناشی از سرب محافظت کند(۹). همچنین مطالعات اثرات ویتامین E را بر روی حافظه و یادگیری نشان داده‌اند(۱۲).

شد ۳۰ ثانیه روی آن باقی بماند و سپس به قفس بازگردانده می‌شد، سپس در فاز به خاطر آوری که ۷۵ دقیقه بعد از آموزش انجام می‌شد، حیوان از نقطه متفاوتی برای پیدا کردن سکو در جای اولیه به داخل مخزن رها می‌گشت و زمان تأخیر در یافتن سکو سنجش می‌شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین زمان طی شده برای یافتن سکو(ثانیه) و همچنین نتایج حاصل از آزمون تست به خاطر آوری و تست حافظه کار فضایی با استفاده از نرم‌افزار و روش آنالیز واریانس یک طرفه مورد SPSS بررسی قرار گرفت.

### یافته‌ها

نتایج حاصل از مقایسه میانگین زمان طی شده برای یافتن سکو به روش آنالیز واریانس یکطرفه در طی سه روز که مربوط به آزمون حافظه فضایی می‌باشد، نشان داد که در روز اول، دوم و سوم گروهی که سرب را به تنهایی مصرف کرده بودند عملکرد ضعیفی نسبت به گروه‌های دیگر داشتند و گروهی که سرب را به همراه یکی از ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان مصرف کرده عملکرد بهتری را دریافتند سکو داشتند(نمودار ۱)(جدول ۱).

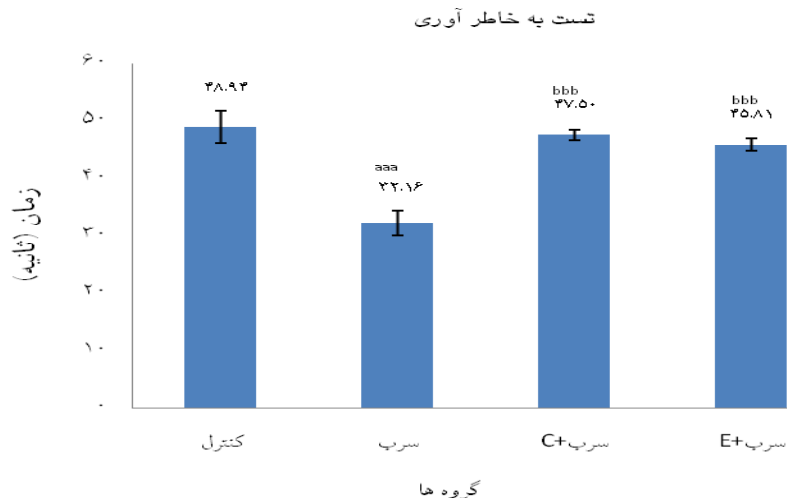
وهم چنین نتایج نشان می‌دهد که مدت زمان یافتن سکو در همه گروه‌ها در طی سه روز روند کاهشی داشته و این امر بیانگر بهبود حافظه در طی سه روز در همه گروه‌ها می‌باشد(نمودار ۱)(جدول ۲).



نمودار ۱: مقایسه‌ی تأخیر در یافتن سکو در طی روزهای اول، دوم و سوم در گروه‌های کنترل، دریافت‌کننده‌ی سرب، ویتامین E و ویتامین C در موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار. \* بیانگر معنی داری نسبت به روز اول، # بیانگر معنی داری نسبت به روز دوم، a بیانگر معنی داری نسبت به گروه کنترل، b بیانگر معنی داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی سرب و C بیانگر معنی داری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی سرب + ویتامین C است.

جدول ۲: داده‌های تأخیر در یافتن سکو در طی روزهای اول، دوم و سوم در موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار. نتایج آزمایش‌های به صورت میانگین ± انحراف معیار (زمان بر ثانیه) ارائه گردیده است.

گروه	تأخیر در یافتن سکو میانگین ± انحراف معیار (زمان بر ثانیه)	سطح معنی‌داری
روز اول	27/36 ± 1/30	-
روز دوم	28/11 ± 1/16	<0.001***
روز سوم	21/61 ± 1	<0.001***

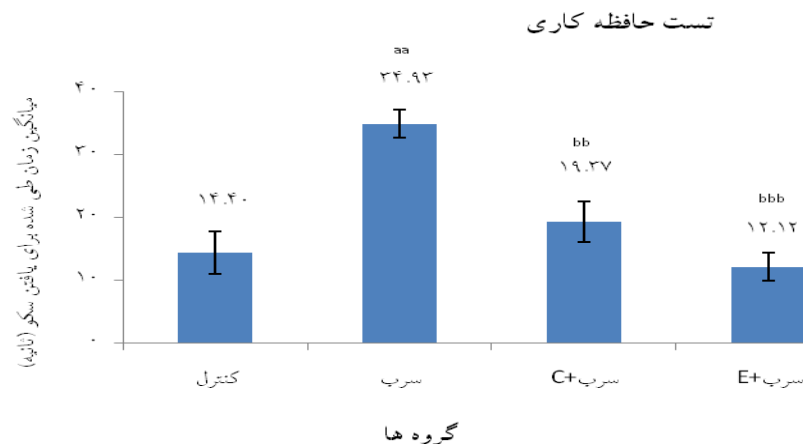


نمودار ۲: مقایسه تأخیر در یافتن سکو در تست به خاطر آوری در گروه های کنترل، دریافت کننده سرب+ویتامین E و سرب+C در موش های صحرایی نر نژاد ویستار. a: بیانگر معنی داری نسبت به گروه کنترل (aaa: P < 0.001)، b: بیانگر معنی داری نسبت به گروه دریافت کننده سرب (bbb: P < 0.001)

جدول ۳: داده های تأخیر در یافتن سکو در تست به خاطر آوری در گروه های کنترل، دریافت کننده سرب، سرب+ویتامین E و سرب+ویتامین C در موش های صحرایی نر نژاد ویستار.

گروه	تأخیر در یافتن سکو میانگین ± انحراف معیار (زمان بر ثانیه)	سطح معنی داری
کنترل	48/94 ± 1/38	-
سرب	32/16 ± 1/05	< 0.001***
سرب+ویتامین C	47/50 ± 0/48	N.S
سرب+ویتامین E	45/81 ± 0/54	N.S

نتایج آزمایش های به صورت میانگین ± انحراف معیار (زمان بر ثانیه) ارائه گردیده است. N.S بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار در مقایسه ی گروه ها نسبت به یکدیگر به صورت دو به دو است.



نمودار ۳: مقایسه تأخیر در یافتن سکو در تست حافظه کاری فضایی در روز چهارم در گروه های کنترل، دریافت کننده ی سرب+ویتامین E و سرب+C در موش های صحرائی نر نژاد ویستار.

a: بیانگر معنی داری نسبت به گروه کنترل ( $P < 0.001$ )

جدول ۴: داده های تأخیر در یافتن سکو در تست حافظه کاری در روز چهارم در گروه های کنترل، دریافت کننده ی سرب، سرب+ویتامین E و سرب+ویتامین C در موش های صحرائی نر نژاد ویستار. نتایج آزمایش های به صورت « میانگین  $\pm$  انحراف معیار (زمان بر ثانیه) » ارائه گردیده است.

گروه	تأخیر در یافتن سکو	
	میانگین $\pm$ انحراف معیار (زمان بر ثانیه)	سطح معنی داری
کنترل	۱۴/۴۰ $\pm$ ۱/۶۷	-
سرب	۳۴/۹۳ $\pm$ ۱/۱۲	<0/01**
سرب+ویتامین C	۱۹/۳۷ $\pm$ ۱/۶۳	N.S
سرب+ویتامین E	۱۲/۱۲ $\pm$ ۱/۱۱	<0/001***

N.S بیانگر عدم وجود اختلاف معنادار در مقایسه ی گروه ها نسبت به یکدیگر به صورت دو به دو است.

حافظه کاری فضایی مشاهده گردید، که نشان از کاهش یادگیری و حافظه در گروه مصرف کننده سرب نسبت به گروه کنترل بود.

نتایج حاصل تأیید کننده نتایج مطالعه های محققان قبلی می باشد. از این نظر می توان سرب را یک ماده سمی برای سیستم عصبی مرکزی در نظر گرفت. یافته های اخیر چنین اذعان می کنند که دو هدف عمده در سمیت عصبی سرب، پروتئین های وابسته به کلسیم و گیرنده های نوروترانسمیتری هستند. به خصوص مواجهه مزمن و حاد با سرب

بنابراین کنترل اثرات سمیت سرب به وسیله ویتامین ها می تواند اهمیت خاصی داشته باشد. هدف این پژوهش بررسی تأثیرات ویتامین E و C در جلوگیری از اثرات سمیت عصبی سرب در حافظه فضایی موش صحرائی نر نژاد ویستار بود.

در آنالیز داده های حاصل از آزمودن گروهی که سرب مصرف کرده بودند با گروه کنترل تفاوت معنی داری در تأخیر در زمان یافتن سکو در طی روزهای اول، دوم و سوم و همچنین تأخیر در یافتن سکو در آزمون های تست به خاطر آوری و تست



الکترون هضم کرده و از پراکسیداسیون چربی جلوگیری می‌کند(۱۷).

مطالعه‌ها نشان می‌دهد که به دنبال تجویز ویتامین C میزان آپوپتوز کاهش می‌یابد که این امر می‌تواند ناشی از نقش آنتی‌اکسیدانی ویتامین C باشد. همچنین محققین نشان دادند که ویتامین C می‌تواند آپوپتوز در منوسیت‌ها را کاهش دهد(۱۸).

مطالعه‌های درون تنی نشان دادند که اسیدآسکوربیک ضایعه‌های سلولی ناشی از سرب را کاهش می‌دهد. گزارش شده که ویتامین C یک لیگاند باند شونده ۲ با سرب بوده و اثرات سمیت سرب را کاهش می‌دهد و اثر آن در حد EDTA<sup>(۳)</sup> است(۲).

همچنین مشخص شده، اسید اسکوریک هم سبب بهبود حافظه می‌شود، اسید اسکوربیک فعالیت دو سیستم گلوتامینرژیک و دوپامینرژیک را تا حدود زیادی تنظیم می‌کند. از آنجا که این دو واسطه عصبی در انواع مختلف یادگیری و حافظه نقش دارند، بنابراین اسید اسکوربیک از طریق آنها بر یادگیری و حافظه اثر می‌گذارد، به طوری که مقادیر کم به وسیله اسید اسکوربیک یادگیری را بهبود می‌بخشد(۱۹).

همچنین در مقایسه نتایج حاصل از آنالیز آزمودن گروهی که سرب و ویتامین E را به صورت هم‌زمان مصرف کرده بودند در مقایسه با گروهی که سرب مصرف کرده بودند، مشاهده شد، گروهی که

غالباً روی دو ترکیب پروتئینی خاص، یعنی پروتئین کیناز C و گیرنده‌های NMDA<sup>(۱)</sup>، که گیرنده نوروترانسمیتر گلوتامات هستند، اثر می‌گذارد(۲). از آنجا که گیرنده‌های NMDA، به وفور در هیپوکامپ یافت می‌شوند و هیپوکامپ در حافظه و یادگیری نقش دارد(۳)، پس این احتمال وجود دارد که اختلال ایجاد شده در تحقیق حاضر از طریق درگیری هیپوکامپ و گیرنده‌های NMDA موجود در آن باشد.

در مقایسه آنالیز داده‌های حاصل از آزمودن گروهی که سرب و ویتامین C را به صورت هم‌زمان مصرف کرده بودند با گروهی که سرب مصرف کرده بودند مشاهده شد، گروهی که سرب و ویتامین C را به صورت هم‌زمان مصرف کرده بودند عملکرد بهتری نسبت به گروهی که تنها سرب مصرف کرده بودند، داشتند.

مکانیسم‌های متعددی برای سمیت عصبی سرب بیان شده است. بعضی مطالعه‌ها معتقدند که تخریب حاد نورونی که در مسمومیت با سرب دیده می‌شود ممکن است در ارتباط با آپوپتوز باشد(۱۶ و ۱۵).

جدیدترین تئوری نحوه اثر سمی سرب را از طریق به هم زدن تعادل پرواکسیدان به آنتی‌اکسیدان مطرح می‌کند. مطالعه‌های برون تنی افزایش تولید Ros<sup>(۲)</sup> را به دنبال مصرف سرب نشان داده‌اند(۲).

ویتامین C آنتی‌اکسیدانی با وزن مولکولی پائین است که Ros مایع را از طریق انتقال خیلی سریع

1- N-methyl-D-aspartate  
2-Reactive Oxygen Species  
3-Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid

سرب و ویتامین E را به صورت هم‌زمان مصرف کرده بودند نیز حافظه بهتری نسبت به گروهی که سرب مصرف کرده بودند داشتند که این امر نیز مؤید فعالیت‌های پژوهشگران پیشین می‌باشد.

مصرف ویتامین E احتمالاً از طریق عمل آنتی‌اکسیدانی در هیپوکامپ سبب جلوگیری از این تخریب می‌شود. در مقایسه مطالعه این گروه از محققان با تحقیق حاضر، با وجود چند برابر بودن دوز ویتامین E و نیز اختلاف در روش‌های ارزیابی حافظه، اما نتیجه نهایی این است که ویتامین E سبب تقویت حافظه می‌شود (۱۲).

همچنین در مطالعه‌های دیگری دوزهای متفاوت و روش‌های مختلف مشابه با نتایج مطالعه حاضر مشاهده شد که ویتامین E در جلوگیری از تخریب حافظه اثر مثبت دارد (۲۰ و ۱۴).

تحقیق‌های متعدد مکانیسم عمل سرب را ناشی از استرس اکسیداتیو می‌دانند (۲۱ و ۲).

مقایسه نتایج حاصل از آزمودن گروه‌هایی که سرب و ویتامین C را به صورت هم‌زمان مصرف کرده بودند با گروه‌هایی که سرب و ویتامین E را به صورت هم‌زمان مصرف کرده بودند مشاهده شد که در عملکرد این دو گروه هیچ تفاوتی وجود نداشته و عملکرد هر دو گروه تقریباً یکسان بود.

مطالعه‌ها نشان می‌دهد که در کاهش حافظه به دنبال استرس مزمن و متناوب می‌توان مصرف ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی هم‌چون E و C را به عنوان استراتژی درمانی جدید برای جلوگیری از اختلال

عملکردی دیده شده در چنین شرایطی در نظر گرفت (۱۴).

#### نتیجه‌گیری

نتیجه مطالعه حاضر نشان داد که قرار گرفتن در معرض سرب به طور قابل توجهی حافظه فضایی و یادگیری را تحلیل می‌برد و استفاده هم‌زمان سرب و ویتامین C و همچنین مصرف هم‌زمان سرب و ویتامین E اثرات مخرب سرب بر حافظه فضایی را کاهش می‌دهد.

#### تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان بود که با همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان و دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام شد.

## REFERENCES

1. Shahidi S, Komaki A, Mahmood M, Atravash N, Ghodrati M. Ascorbic acid supplementation could affect passive avoidance learning and memory in rat. *Brain Research* 2008; 76: 109-13.
2. Marchetti C. Molecular target of lead in brain neurotoxicity. *Neurotoxicity Research* 2003; 5(3): 221-3.
3. Hsu P, Guo YL. Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology* 2002; 180: 33-44.
4. Mehdizadeh M, Kermanian F, Farjah G. Schwann cell injuries of radial nerve after lead (pb) exposure in rats. *Pathophysiology* 2008; 15(1): 13-7.
5. Xu J, Lian LJ, Wu C, Wang XF, Fu WY, et al. Effects of lead exposure on hippocampal metabotropic glutamate receptor subtype 3 and 7 in developmental rats. *Journal of Negative Results in Biomedicine* 2009; 8: 5.
6. Barkur RR, Rao MS, Baiyya LK. Low lead exposure during foetal and early postnatal life impairs passive avoidance learning in adulthood in rat. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* 2011; 62(2): 147-53.
7. Soodi M, Naghdi N, Sharifzadeh M, Ostad SN, Abdollahi M. Effect of lead (pb<sup>2+</sup>) exposure in female pregnant rats and their offspring on spatial learning and memory in morris water maze. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2008; 7(1): 43-51.
8. Roy A, Bellinger D, Hu H, Schwartz J, Ettinger AS, Wright RO, et al. Lead exposure and behavior among young children in Chennai. *India Environ Health Perspect* 2009; 117: 1607-11.
9. Tarig SA. Role of ascorbic acid in Scavenging free radicals and lead toxicity from biosystems. *Molecular Biotechnology* 2007; 37:63-5.
10. Patra RC, Swarop D, Dwivedi SK. Antioxidant effects of  $\alpha$ -tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicology* 2001; 162: 80-1.
11. Pande M, Flora SJS. Lead-induced oxidative damage and its response to combined administration of alpha-lipoic acid and succimers in rat. *Toxicology* 2002; 177: 187-96.
12. Alzoubi KH, Khabour OF, Rashid BA, Damaj IM, Salah HA. The neuroprotective effect of vitamin E on chronic sleep deprivation-induced memory impairment: the role of oxidative stress. *Behavioural Brain Research* 2012; 226(1): 205-10.
13. Fukui K, Hayasaka T, Shinkai T, Suzuki S, Abe K, et al. Impairment of learning and memory in caused by oxidative stress and aging, and changes in antioxidative defense systems. *Annals of the New York Academy of Science* 2001; 928: 168-75.
14. Tagliari B, Schherer EB, Machado FR, Ferreira AG, Dalmaz C, Wyse AT. Antioxidants prevent memory deficits provoked by chronic variable stress in rats. *Neurochemical Research* 2011; 36(12): 2373-80.
15. Garza A, Vega R, Soto E. Cellular mechanisms of lead neurotoxicity. *Medical Science Monitor* 2006; 12(3): 57-63.
16. Sharifi AM, Baniasadi S, Jorjani M, Rahimi F, Bakhshayesh M. Investigation of acute lead poisoning on apoptosis in rat hippocampus in vivo. *Neuroscience Letters* 2002; 329: 45-8.
17. Flora SJS, Tandon SK. Prevention and therapeutic effects of thiamin, ascorbic acid and their combination in lead intoxication. *Acta Pharmacology Toxicology* 1986; 58: 374-8.
18. Perez-Cruz I, Carcamo JM, Golde D. Vitamin C inhibit FAS-induced apoptosis in monocytes and U937 cells. *Blood* 2003; 102: 336-43.
19. Esmaili MH, Doodangeh E, Sharifi M. The effect of ascorbic acid on spatial learning. *The Journal Of Qasvin Univ. Journal of Medical Sciences* 2003; 24: 3-8.
20. Kin EM, Eliot JJ, Hobson P, O'Hare E. Effects of intrahippocampal NAC 61-95 on memory in the rat and attenuation with vitamin E. *Progress in Neuro-psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2009; 33(6): 945-51.
21. Basha MR, Wei W, Brydie M, Razmiafshari M, Zawia NH. Lead-induced developmental prevented by zinc supplementation. *International Journal of Developmental Neuroscience* 2003; 21(1): 1-12.

## The Effect of vitamin E and C in the Prevention of Neurotoxicity of Lead on Spatial Memory in Male Wistar rats

Gharehbaghi H<sup>1\*</sup>, Salehi I<sup>2</sup>, Shahidi S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Islamic Azad University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran, <sup>2</sup> Research Center Neurophysiology, Hamedan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Received: 5 March 2014 Accepted: 12 June 2014

### Abstract

**Background & aim:** Oxidative stress is one of the possible molecular mechanisms of light-mediated neurotoxicity of lead and on the other hand vitamin C and E have high antioxidant activity. The purpose of this study was to investigate the protective effect of these two vitamins on the effects of lead toxicity on learning ability.

**Methods:** The present experimental study was conducted on thirty-two male Wistar rats divided in groups of 8, including a control group received no lead and vitamins, the group received water containing lead (0.2%), the group received water containing lead plus vitamin C and final group received water containing lead and vitamin E. Materials were used in mice by gavage daily for 3 months. Morris water maze device was used to assess spatial memory. Measures of spatial learning and memory were assessed using ANOVA.

**Result:** Time for finding the platform (s) during the training phase in the lead group plus vitamin E and vitamin C was lesser than the lead group alone. Also in the retrieval and working memory tests, both groups lead plus vitamin E and lead plus vitamin C, a significant difference in the percentage of the elapsed time in the target quadrant and the average time to find the platform (s) in the fourth day of having lead was observed ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Exposure to lead reduced spatial learning and memory, but simultaneous use of lead with vitamin C and vitamin E could reduce the damaging effects of lead on spatial memory.

**Keywords:** lead, vitamin E, vitamin C, learning memory, rat

---

**corresponding author:** Gharehbaghi H., Department of Biology, Islamic Azad University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran  
**Email:** h.gharehbaghi@yahoo.com

**Please cite this article as follows:**

Gharehbaghi H, Salehi I, Shahidi S. The Effect of vitamin E and C in the Prevention of Neurotoxicity of Lead on Spatial Memory in Male Wistar rats. *Armaghane-danesh* 2014; 19(9): 758-770.