مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال اول، شماره دوم، پاییز ۱۳۹۱ (۱۰-۱)

تأثیر تزریق آسکوربات اکسیداز و آگونیست گیرنده D_2 بروموکریپتین در پوسته هسته اکومبنس بر تغذیه موش‌های صحرایی نر بالغ

اسما امینی‌زاده[۱]، مهدی عباس‌نژاد[۲]*
۱. دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۲. عضو هیئت علمی گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۳۰، تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۹/۱۰)

چکیده
هسته اکومبنس یکی از نواحی کنترل تغذیه و حاوی نورون‌های دوپامینرژیکی است، اسید آسکوربیک در تنظیم رهایش این نورون‌ها نقش دارد. در مطالعات قبلی ما مشخص گردید که تزریق اسید اسکوربیک در هسته اکومبنس باعث کاهش تغذیه شده است. لذا در تحقیق حاضر به بررسی نقش تزریق اسکوربات اکسیداز در پوسته هسته اکومبنس بر اثرات تغذیه‌ای گیرنده‌های D_2 دوپامینی می‌پردازیم. روش بررسی: از ۹۸ موش صحرایی نر نژاد Wistar در محدوده وزنی ۲۷۰-۲۲۰ گرم در ۱۴ گروه استفاده شد. کنترل، اسید آسکوربیک (۵۰ µg/side و ۲۵۰)، بروموکریپتین (۵۰ µg/side و ۲۵)، اسید آسکوربیک و بروموکریپتین (۵۰ µg/side و ۵۰) آسکوربات اکسیداز (۰/۲ µg/side)، آسکوربات اکسیداز و بروموکریپتین (۰/۲ µg/side و ۵۰)، اسکوربات اکسیداز غیرفعال (۰/۲ µg/side) و شم اسید آسکوربیک، بروموکریپتین و اسکوربات اکسیداز. حجم تزریق دارو یک میکرولیتر، مدت تزریق ۴ روز و اندازه‌گیری غذا در هر ۱۲ ساعت دوره تاریکی تکرار شد. یافته‌ها: تزریق داخل اکومبنسی اسیدآسکوربیک و بروموکریپتین منجر به کاهش مصرف غذایی شد، تزریق توأم اسید آسکوربیک و بروموکریپتین منجر به تعدیل و تزریق آسکوربات اکسیداز منجر به افزایش مصرف غذا شد. نتایج جدید تأکیدکننده یافته‌های قبلی است که در آن اسید اسکوربیک به عنوان یک ترکیب موثر در تنظیم غذا در پوسته هسته اکومبنس می‌باشد. علاوه بر این نتایج نشان داد اسکوربات اکسیداز، نیز در تنظیم تغذیه مداخله دارد. اسکوربات اکسیداز و اسید اسکوربیک می‌توانند اثر آگونیست گیرنده D_2 دوپامینی در هسته اکومبنس در ارتباط با تغذیه را تغییر دهند.

واژه‌های کلیدی: اسکوربات اکسیداز، اسید اسکوربیک، بروموکریپتین، دریافت غذا وپوسته هسته اکومبنس.

The Effect of Intraaccumbance Injection of Ascorbate Oxidase and Dopamine D2 agonist, Bromocriptine on Adult Male Rats Feeding

A. Aminizade[1], M. Abbasnejad[2]*
1, 2, Department of Biology, Shahid Bahonar University, Kerman
(Received: Oct. 21, 2012; Accepted: Dec. 1, 2013)

Abstract
Nucleus accumbens as one of the feeding control areas has dopaminergic neurons, ascorbic acid (AA) plays a role in g the release of these neurons .Our previous studies have shown that Intraaccumbance shell (Acbsh) injection of AA decreased feeding, So in the present study we evaluate the role of Ascorbate oxidase (AAO) injection in Acbsh on appetitive effects of D2 receptors. 98 adult male Wistar rats (220-270 g) were used into 14 groups: control (intact), sham AA (normal salin as AA vehicle), AA (50 and 250 µg/rat),sham bromocriptine, Br (50 and 25 µg/rat), AA plus Br (50 and 50 µg/rat) , Sham AAO (injected H2O as AAO vehicle),AAO(0.2 µg/rat), inactive AAO(0.2 µg/rat) and AAO plus Br (0.2 and 50 µg/rat).Drugs were injected daily (volum = 1µl) for four constitutive day and feed measurement was repeated every 12 hours during the dark period. The result showed that; Intraaccumbance injection of AA (50 and 250 µg/rat) decreased feed intake as well as Br (50 and 20 µg/rat) on the other hand AAO in the Acbsh (0.2 µg/rat) increased feed intake ($p < 0.05$). Our new result confirms the previous finding about the role of AA as an effective factor in feeding regulation in Acbsh. In addition AAO related results showed that depletion of ascorbic acid, also changed feed intake. Moreover the results showed that AA and AAO in Acbsh could change the D2 dopamine agonist induced feed intake.

Keywords: Ascorbate oxidase, Ascorbic acid, bromocriptine, Feed intake, Nucleus accumbens shell**.**

* نویسنده مسئول: مهدی عباس‌نژاد E-mail: mabbas@mail.uk.ac.ir

مقدمه

روند چاقی و افزایش وزن به میزان هشدار دهنده‌ای در دو دهه گذشته افزایش یافته است. اهمیت کنترل چاقی، اشتها، تلاش پژوهشگران را در این زمینه فزونی داده است. هسته اکومبنس یکی از اجزاء مهم در مسیر پاداش و یکی از نواحی مغزی مهم در تنظیم انگیزش خوردن و اشتهاست (Wynne *et al*., 2005). تحقیقات نشان می‌دهد که پوسته هسته اکومبنس در کنترل رفتار بلعی خوردن، نقش دارد که می‌توان گفت به علت ارتباطات آناتومیکی مستقیم و غیرمستقیمی است که با هیپوتالاموس جانبی دارد (Robinson, 1998).

از آنجا که هسته اکومبنس در بخش قدامی هیپوتالاموس واقع شده است، بنابراین ورودی‌های واگی را بعد از پردازش انجام شده در هیپوتالاموس دریافت می‌کند. سیگنال‌ها از هیپوتالاموس به نواحی جلوی مغزی از جمله هسته اکومبنس ارسال می‌شوند (Sangeeta *et al*., 2004).

ویتامین C در سلول‌های پستانداران توسط دو نوع پروتئین ذخیره می‌شود: کوترانسپورتر اسکوربات–سدیم (SVCTs)[1] و ناقل‌های هگزوزی (GLUTs)، دهیدرواسکوربات شکل اکسیده ویتامین C از طریق GLUT1 و GLUT3 منتقل می شود، SVCT شامل دو ایزوفرم SVCT1 و SVCT2 می باشد که فعالانه شکل احیای این ویتامین یعنی اسکوربات را منتقل می‌کنند (Savini *et al*., 2008). غلظت اسید آسکوربیک بیشتر از ۲۵۰ µg/g بافت تر در تعداد زیادی از ساختارهای مغز قدامی مانند هیپوکمپ، هسته اکومبنس، جسم مخطط، هیپوتالاموس و سپتوم می‌باشد (Wen *et al*., 2000). اسید اسکوربیک در مغز پستانداران سنتز نمی شود Harrison and May (2009)، این ترکیب بواسطه مکانیسم انتقال فعال و انتشار در شبکه کوروئید جذب و توسط SVCT2 که در سلول‌های نورواپی تلیال شبکه کوروئید حضور دارد به مغز و نورون‌ها انتقال می‌یابد (Tsukaguchi *et al*., 1999)، این سیستم انتقالی فعال و اشباع‌پذیر در شبکه کوروئید اجازه می‌دهد اسکوربات توسط یک مکانیسم دو مرحله‌ای از پلاسما به مایع مغزی–نخاعی و سپس به نورون‌ها انتقال یابد (Hakvoort *et al*., 1998).

اسید اسکوربیک علاوه بر نقش کوفاکتوری و آنتی‌اکسیدانی‌اش، به عنوان یک نورومدولاتور در سیستم عصبی مرکزی نیز معرفی شده است (Wen *et al*., 2000) اسید اسکوربیک به عنوان یک کوفاکتور در واکنش‌های آنزیمی مهم، مانند سنتز کاتکولامین‌ها، کلسترول، آمینواسیدها، برخی هورمون‌های پپتیدی و تولید نوراپی نفرین از دوپامین عمل می‌کند (Harrison and May, 2009).

در سیستم عصبی مرکزی اسیدآسکوربیک به عنوان نورومدولاتور باعث تغییر در سیستم‌های گلوتامات ارژیک، دوپامین نرژیک می‌شود (Rice, 2000). اسید آسکوربیک برای رهایش استیل کولین و نوراپی نفرین از سیناپس ضروری است (Kuo *et al*., 1979). مطالعات نشان می‌دهد که اسید اسکوربیک در تنظیم اشتها و نیز برای سنتز بعضی از نوروترانسمیترهای تنظیم‌کننده اشتها مانند NPY (Eipper *et al*., 1995)، نوراپی‌نفرین (Nakashima *et al*., 1970)، سروتونین و دوپامین (Kaufman and Friedman, 1965)، ضروری است. 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 (Deshnde *et al*., 2006). آگونیست‌های دوپامین میزان آسکوربات خارج سلولی را در جسم مخطط و هسته اکومبنس افزایش می‌دهند (Morris, 1989). حتی گفته شده این ماده در بعضی غلظت‌ها به عنوان یک آنتاگونیست دوپامین در مغز عمل می‌کند (Sahraei *et al*., 2007).

اسکوربات اکسیداز[2] (AAO) (EC 1.10.3.3) استخراج شده از گیاه *Cucurbita sp.* متعلق به خانواده اکسیدوردکتازها به خصوص آنهایی که روی دی‌فنول‌ها و مواد مربوطه که به عنوان دهنده اکسیژن عمل می‌کنند، می باشد (MacCarrone *et al*., 1993). AAO آنزیمی دایمر با وزن مولکولی 140KDa است. به صورت اختصاصی روی L-Ascorbic Acid اثر دارد اما اثر اندکی روی بقیه آنالوگ‌ها می‌گذارد (Lee and Dawson, 1973). این آنزیم واکنش زیر را (Boyer *et al*., 1963) که با احیا مولکولی اکسیژن به آب همراه می‌باشد کاتالیز می‌کند:

$$2\ \text{L-Ascorbate} + O_2 \xrightarrow{AAO} 2\ \text{dehydroascorbate} + 2\ H_2O$$

تجربیات قبلی نشان داده‌اند بعد از تزریق AAO، یک کاهش بیش از ۵۰ درصدی در سطح اسید آسکوربیک خارج

[1] Sodium–vitamin C co-transporter

[2] Ascorbate oxidase (AAO)

سلولی استریاتوم دیده می‌شود. کاهش در طی دوره ثبت، ثابت باقی مانده است (George, 2001). فعالیت آسکوربات اکسیداز در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به بیشترین مقدار خود می‌رسد و در دمای بالاتر از ۵۵ درجه سانتی‌گراد پس از طی مدت زمان ۳۰ دقیقه به کمترین میزان خود می‌رسد (MacCarrone *et al*., 1993). با توجه به مقدمه گفته شده، دوپامین و اسید آسکوربیک در تنظیم تغذیه نقش دارند، اسید آسکوربیک هم در رهایش دوپامین اهمیت دارد و از طرفی هسته آکومبنس نیز یکی از نواحی کنترل تغذیه است. مطالعات قبلی ما نشان داده‌اند که اسید آسکوربیک و دوپامین در بعضی نواحی مغزی در تغذیه موش‌های صحرایی نقش دارند. لذا هدف تحقیق حاضر جهت روشن‌تر شدن و در جهت دست‌یابی به مکانیسم عمل آنزیم آسکوربات اکسیدار به تنهایی و نیز به همراه اسید آسکوربیک و آگونیست دوپامین در هسته آکومبنس طراحی گردید تا اثر تغذیه‌ای آن مورد بررسی قرار گیرد. لازم به یادآوری است موش‌های صحرایی عمدتاً تغذیه را در مرحله تاریکی انجام می‌دهند اندازه‌گیری غذا در فاز اولیه تاریکی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، تعداد ۹۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد Wistar، در گروه‌های ۷ تایی با میانگین وزنی ۲۲۰ تا ۲۷۰ گرم استفاده شد، موش‌ها از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه شهید باهنر تهیه شدند. حیوانات در قفس‌های مخصوص در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای (۲۳±۲°C) 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. گروه‌های مورد مطالعه شامل: گروه‌های کنترل، آسکوربیک اسید (۵۰ µg/side و ۲۵۰)، بروموکریپتین (۵۰ µg/side و ۲۵)، آسکوربیک اسید و بروموکریپتین (۵۰ µg/side و ۵۰) آسکوربات اکسیداز (۰/۲ µg/side)، آسکوربات اکسیداز و بروموکریپتین (۰/۲ µg/side و ۵۰)، اسکوربات اکسیداز غیرفعال (۰/۲ µg/side) و شم آسکوربیک اسید، بروموکریپتین و اسکوربات اکسیداز بودند. حجم تزریق دارو یک میکرولیتر، مدت تزریق ۴ روز و اندازه‌گیری غذا در هر ۱۲ ساعت دوره تاریکی تکرار شد.

روش جراحی

به منظور قرار دادن کانول راهنما در این منطقه، ابتدا حیوانات با استفاده از مخلوط کتامین-گزیلازین (کتامین ۶۰mg/kg و گزیلازین ۴ mg/kg)، (Netherlands Alfasan Co.,)، به صورت تزریق داخل صفاقی بی‌هوش شدند. کانول‌گذاری در پوسته هسته اکومبنس به صورت دوطرفه (سر سوزن شماره ۲۲ کانول راهنما) بر طبق اطلس پاکسینوس - واتسون با مختصات AP=۱/۷mm (DV=-۵/۶mm، ML= ±۰/۸) با استفاده از دستگاه استریوتاکس تک‌بازویی (Stoeling Co., USA) انجام شد. (Badreh *et al*., 2009).

از سر سوزن شماره ۲۵ به عنوان درپوش کانول‌ها و سر سوزن دندان پزشکی شماره ۲۷ برای کانول تزریق، همچنین برای تثبیت کانول‌ها از پیچ عینک و سیمان دندان پزشکی استفاده گردید.

تزریق دارو

تزریق داروها (L-Ascorbic acid, Sigma A-7506, USA و Sigma A-0157, USA، Ascorbate oxidase) بعد از جراحی و طی دوره بهبودی (یک هفته)، به کمک سرنگ هامیلتون یک میکرولیتری و با تکنیک پیش راندن حباب با استفاده از لوله پلی اتیلن شماره ۱۰ به طول ۲۰ سانتی‌متر و سر سوزن شماره ۲۷ در پوسته هسته اکومبنس انجام شد. حجم تزریق یک میکرولیتر (Badreh *et al*., 2009)، مدت زمان تزریق یک دقیقه و به مدت چهار روز متوالی صورت می‌گرفت، سپس۲۰ دقیقه بعد از هر بار تزریق، موش‌ها درون قفس متابولیک (TSE Co., Germany) برای اندازه‌گیری غذا و آب مصرفی گذاشته می‌شدند، اندازه‌گیری غذای مصرفی هر ۱۲ ساعت تکرار شد. بعد از اتمام آزمایش‌ها، سر حیوانات با استفاده از گیوتین جدا شده و از مغز موش‌ها پس از خروج از جمجمه و فیکس کردن در محلول فرمالین ۲۰٪، به وسیله دستگاه ویبرواسلایس برش‌هایی در حد ۱۰۰-۱۵۰میکرونی از موضع کانول‌گذاری برای صحت جایگاه مورد نظر تهیه شد. سپس با استفاده رنگ آمیزی نیسل مقاطع مورد نظر رنگ آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند.

داده‌های مزبور به تزریق با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one- way ANOVA) مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین محل اختلاف ازآزمون Tukey استفاده شد. P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد و داده‌ها

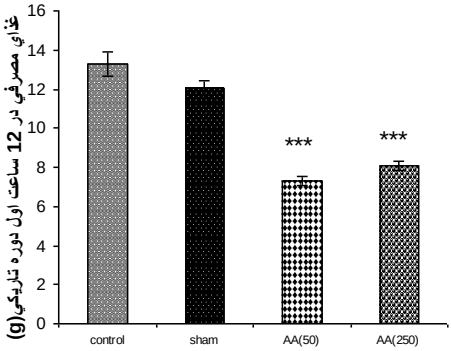
در کلیه نمودارها به صورت میانگین به اضافه منهای خطای استاندارد میانگین (Mean±SEM) نشان داده شده است.

اطلاعات و داده‌ها

بررسی نتایج مؤثر بر دریافت غذا

۱. اثر تزریق مرکزی اسید آسکوربیک بر دریافت غذا

تزریق اسید اسکوربیک در پوسته هسته اکومبنس در هر دو دوز مورد نظر (۲۵۰µg/side و۵۰) میزان مصرف غذا را در ۱۲ ساعت اول (دوره تاریکی) کاهش داده است P<۰/۰۰۰۱ (شکل ۱).



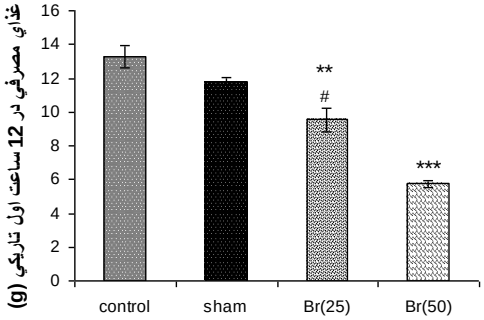
شکل ۱. مقایسه اثر تزریق دوزهای متفاوت (۵۰µg/side و ۲۵۰) اسید آسکوربیک د رپوسته هسته اکومبنس با گروه کنترل و شاهد بر میانگین مصرف غذای ۱۲ ساعت اول دوره تاریکی. (n=۷)

(AA: Ascorbic Acid)

***P<0.001 vs control & sham

۲. اثر تزریق مرکزی بروموکریپتین بر دریافت غذا

تزریق بروموکریپتین در پوسته هسته اکومبنس باعث کاهش مصرف غذا شده است و میانگین مصرف غذای در ۱۲ ساعت اول تاریکی در دوزهای موردنظر (۵۰µg/side و ۲۵)، کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد نشان می‌دهد P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱ (شکل ۲).



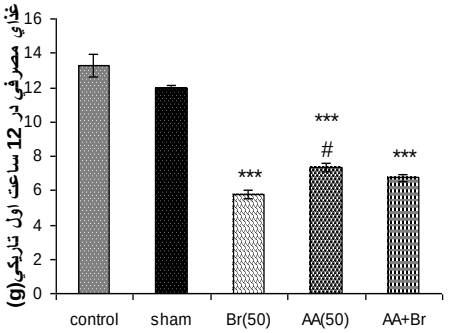
شکل ۲. مقایسه دوزهای متفاوت (۵۰µg/side و ۲۵) بروموکریپتین با گروه کنترل و شاهد بر میانگین مصرف غذای ۱۲ ساعت اول تاریکی . (n=۷) (Br: Bromocriptine)

#P<0.05 vs sham **P<0.01 vs control

***P<0.001 vs control & sham

۳. اثر تداخل مرکزی اسید آسکوربیک و بروموکریپتین بر دریافت غذا

تزریق توأم اسید اسکوربیک و بروموکریپتین در پوسته هسته اکومبنس باعث کاهش مصرف غذا شده است. میانگین مصرف غذای ۱۲ ساعت اول تاریکی در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد باعث تفاوت معنی‌داری بر میزان مصرف غذا شده است، مقایسه گروه دریافت کننده تزریق توأم با گروه‌های دریافت کننده اسید اسکوربیک و دریافت کننده بروموکریپتین نشان می‌دهد که تزریق توأم باعث تعدیل مصرف غذا نسبت به این دو گروه می‌شود P<۰/۰۰۱ (شکل ۳).



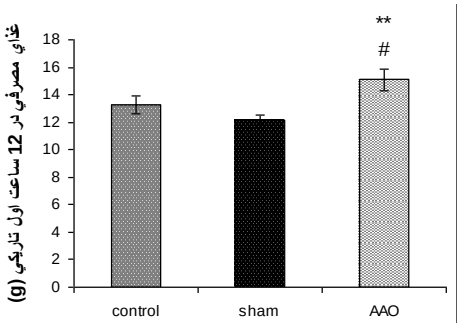
شکل ۳. مقایسه اثر تزریق توأم اسید اسکوربیک و بروموکریپتین با گروه کنترل و شاهد بر میانگین مصرف غذای ۱۲ ساعت اول تاریکی. (n=۷)

***P<0.001 vs control& sham

# P<0.01 vs Br(50)

۴. اثر تزریق مرکزی اسکوربات اکسیداز بر دریافت غذا

تزریق اسکوربات اکسیداز در پوسته هسته اکومبنس (۰/۲µg/side) میزان مصرف غذا را در مقایسه با گروه‌های شم و کنترل افزایش می‌دهد P<۰/۰۰۱ (شکل ۴).



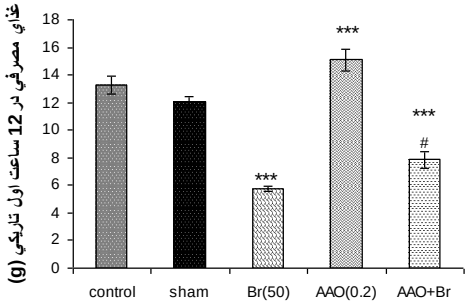
شکل ۴. مقایسه اثر تزریق اسکوربات اکسیداز دوز (۰/۲µg/side) با گروه کنترل و شاهد بر میانگین مصرف غذای ۱۲ ساعت اول دوره تاریکی. (n=۷)

**P<0.01 control

# P<0.001 vs sham

۵. اثر تداخل مرکزی اسکوربات اکسیداز و بروموکریپتین بر دریافت غذا

مقایسه گروه دریافت کننده تزریق توأم اسکوربات اکسیداز و بروموکریپتین در پوسته هسته اکومبنس با گروه‌های دریافت‌کننده اسکوربات اکسیداز و دریافت‌کننده بروموکریپتین نشان می‌دهد که تزریق توأم باعث کاهش مصرف غذا دردوره ۱۲ ساعت اول تاریکی نسبت به این دو گروه می‌شود P<۰/۰۰۱ (شکل ۵).

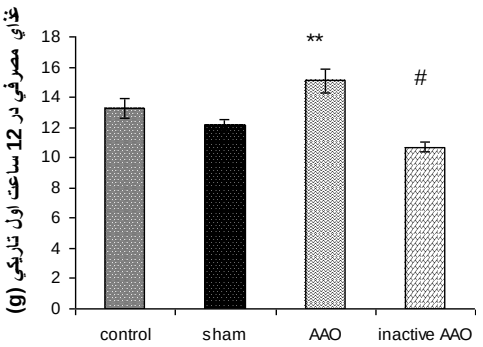


شکل ۴. مقایسه اثر تزریق توأم اسکوربات اکسیداز و بروموکریپتین با گروه کنترل و شاهد بر میانگین مصرف غذای ۱۲ ساعت اول تاریکی.(n=۷)

***P<0.001 vs control & sham
**P<0.001 vs control

۶. اثر تزریق مرکزی اسکوربات اکسیداز غیر فعال بر دریافت غذا

میانگین مصرف غذا طی ۱۲ ساعت اول تاریکی نشان می‌دهد که تزریق آسکوربات اکسیداز غیر فعال در پوسته هسته اکومبنس اثر معنی‌داری بر مصرف غذا نسبت به گروه دریافت‌کننده آسکوربات اکسیداز در سطح معنی‌داری P<۰/۰۰۱ دارد (شکل ۶).



شکل ۶. مقایسه اثر تزریق اسکوربات اکسیداز غیرفعال (۰/۲μg/side) با گروه کنترل و شاهد بر میانگین مصرف غذای ۱۲ ساعت اول تاریکی. (n=۷)

** P<0.01 vs control
#P<0.001 vs (AAO)

نتایج و بحث

نتایج نشان داد تزریق داخل پوسته آکومبنسی اسیدآسکوربیک و بروموکریپتین منجر به کاهش مصرف غذای موش‌های صحرایی شد، تزریق توأم اسید آسکوربیک و بروموکریپتین نیز منجر به کاهش مصرف غذا گردید، تزریق آسکوربات اکسیداز منجر به افزایش مصرف غذا شد و تزریق توأم آسکوربات اکسیداز و بروموکریپتین منجر به کاهش مصرف غذا گشت.

در رابطه با اثر اسید آسکوربیک بر دریافت غذا مطالعات اندک و محدودی انجام گرفته از جمله مشخص گردید، تزریق مرکزی اسید اسکوربیک باعث کاهش مصرف غذا شده است (Badreh *et al*., 2009). در پژوهش قبلی نتایج حاصل از پیش درمانی به مدت ۱۵ روز با اسید اسکوربیک به صورت خوراکی نشان داد که هیچ تأثیری بر تزریق مرکزی ۴ روزه آن در هسته اکومبنس که باعث کاهش مصرف غذا شده است ندارد (Salari *et al*., 2012).

توزیع، غلظت خارج سلولی و محدوده غلظت و رابطه اسیدآسکوربیک در نواحی مختلف مغزی متفاوت است. در همین رابطه مشخص شده اسید آسکوربیک و آسکوربات اکسیداز در مناطق استریاتوم و هیپوکمپ اثر متفاوتی بر رفتار دارند (George, 2001).

با توجه به وجود سیستم‌های نوروترانسمیتری چندگانه در هسته اکومبنس اسید اسکوربیک ممکن است اثر خود را بر تغذیه از طریق این سیستم‌ها اعمال کند. در هر صورت اسید اسکوربیک و آسکوربات اکسیداز هیچکدام نتوانسته‌اند اثر بروموکریپتین را به مقدار قابل توجهی تغییر دهند، در واقع این بدین معنی است که در خصوص این اثر تغذیه ای بایستی نقش مداخله‌ای نوروترانسمیتر دیگری غیر از دوپامین نیز با اسید آسکوربیک مطرح باشد. همانطور که دیدیم نقش بروموکریپتین بیشتر از اسید آسکوربیک است در واقع اسید آسکوربیک تغییر معنی‌داری در اثر کاهشی بروموکریپتین ایجاد نکرد، اگرچه تعدیلی در جهت افزایش داده است. در همین خصوص تزریق AAO محرک تغذیه بوده اما اثر توأم آن با بروموکریپتین نشان می‌دهد که تغییری در عملکرد بروموکریپتین ایجاد نکرده است. رهایش بسیاری از نوروترانسمیترهای مؤثر در تنظیم تغذیه از جمله دوپامین با اسید اسکوربیک همراه است (Gonon *et al*., 1980; Alaei *et al*., 2005). رهایش اسید اسکوربیک هم می‌تواند متابولیسم این نوروترانسمیترها را در موضع رها شده تنظیم و بدین طریق در عملکرد فیزیولوژیک آنها دخالت خواهد کرد. همچنین مطالعات قبلی نشان داده‌اند در خصوص بعضی از آنها مثل دوپامین به عنوان یک آگونیست یا

آنتاگونیست عمل کرده (Deshnde *et al*., 2006) و عملکرد آن را تحت تأثیر قرار دهد. فعالیت نورون‌های دوپامینرژیکی در پوسته اکومبنس سبب کاهش دریافت غذا می‌شود (Koshikawa *et al*., 1996).

همانطور که در پژوهش‌ها نیز بروموکریپتین به عنوان آگونیست اختصاصی گیرنده D_2 باعث کاهش مصرف غذا گردید. به طور متناوب اسکوربات ممکن است به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طول عمر دوپامین در مایع خارج سلولی را افزایش دهد. به نظر می‌رسد این مکانیسم در شبکیه انجام گیرد (Neal *et al*., 1999). در همین رابطه گفته شده اسکوربات ممکن است این پروسه محافظت دوپامینی در مقابل حملات اکسیداتیو را تسهیل کند (George, 2001).

تزریق دوطرفه آنتاگونیست‌های گیرنده‌های گلوتاماتی AMPA/kainate در پوسته هسته اکومبنس دریافت غذا را سریعاً بدنبال تزریق و در روشی وابسته به دوز افزایش می‌دهد که این تغییر در مناطق مجاور آن نظیر مرکز هسته اکومبنس و جسم مخطط شکمی دیده نمی‌شود (Shin *et al*., 1990)، همچنین آزادسازی اسید اسکوربیک از سلول‌های مغزی به‌طور عمده همراه با فعالیت نورون‌های گلوتامینرژیک، خصوصاً از طریق مبادله خلاف جهت آسکوربات–گلوتامات از غشای نورون‌ها یا سلول‌های گلیال می‌باشد (Karanth *et al*., 2000). ممکن است اسید اسکوربیک از طریق مداخله در این سیستم نورونی مصرف غذا را کاهش دهد.

خروجی استیل کولین هسته اکومبنس سیری را القاء و مدت زمان تغذیه را افزایش می‌دهد، افزایش استیل‌کولین به مهار تغذیه منجر می‌شود (Kyrkouli *et al*., 1990). از آنجا که اسید اسکوربیک و سیستم کولینرژیک متأثر از یکدیگر هستند و اسید اسکوربیک به عنوان یک نورومدولاتور روی سسیتم کولینرژیک مؤثر است (Harrison and May, 2009)، و سیستم کولینرژیک نیز در رهایش اسید اسکوربیک دخیل است (Pei *et al*., 2006) در نتیجه احتمال اینکه بخشی از اثر اسیداسکوربیک یا تمام آن از طریق این مسیر میانجی‌گری شود نیز هست.

مشخص شده است که اسیداسکوربیک و سروتونین با هم در تنظیم اشتها عمل می‌کنند (Odumosu, 1981). بنابراین اسید اسکوربیک می‌تواند از طریق مداخله در این سیستم هم در کاهش مصرف غذا مؤثر باشد.

ارتباطات دوطرفه گابا ارژیکی بین هسته اکومبنس و هیپوتالاموس جانبی وجود دارد. این سیستم احتمالاً با از مهار درآوردن نورون‌های هیپوتالاموس جانبی لذت‌بخشی خوردن را تعدیل می‌کند (Stratford and Kelley, 1999). آگونیست‌های این سیستم باعث افزایش دریافت غذا و آنتاگونیست‌های آن باعث کاهش دریافت غذا می‌شوند (Echo *et al*., 2001) اسید اسکوربیک نیز به عنوان یک نورومدولاتور در انتقال گابا ارژیک عمل می‌کند (Harrison and May, 2009). بنابراین اسید اسکوربیک ممکن است بطور مستقیم از طریق سیستم گابا ارژیک آکومبنس یا بطور غیرمستقیم از طریق هیپوتالاموس جانبی بر روند تغذیه مؤثر باشد.

از طرف دیگر با توجه به حضور گیرنده‌های کوله سیستوکینین در هسته اکومبنس (Sangeeta *et al*., 2004)، همچنین از آنجا که هسته اکومبنس در بخش قدامی هیپوتالاموس واقع شده است و بنابراین ورودی‌های واگی را بعد از پردازش انجام شده در هیپوتالاموس دریافت می‌کند (Sangeeta *et al*., 2004) و مطالعات هم نشان می‌دهد که هسته اکومبنس در تنظیم اتونومیکی مرکزی تغذیه نقش دارد که این کنترل عمدتاً بوسیله اثرات اتونومیکی بر جزایر لانگرهانس، هپاتوسیت‌ها و آدیپوسیت‌ها صورت می‌گیرد (Steffens *et al*., 1990)، پیشنهاد می‌شود بعضی از سیگنال‌های وابسته به معده که در هیپوتالاموس پردازش شده به هسته اکومبنس انتقال می‌یابد و این نشان می‌دهد که هسته اکومبنس در تداخل سیگنال‌های معدی وابسته به پردازش هضمی مناسب باشد (Sangeeta *et al*., 2004). بنابراین ممکن است اسید آسکوربیک از طریق هسته اکومبنس، سیستم پاراسمپاتیک را تحت تاثیر قرار دهد، و در نتیجه از طریق رهایش مواد موجود در شبکه انتریک از جمله CCK اثر خود را بر مراکز کنترل کننده دریافت غذا اعمال کند. از آنجا که مشخص شده است که اسید اسکوربیک روی ترشح پرولاکتین اثر بازدارنده دارد (Shin *et al*., 1990)، و همچنین پرولاکتین یکی از هورمون‌های کنترل کننده تغذیه است (Abbasnejad, 2002)، لذا ممکن است اسید اسکوربیک اثر خود را از طریق کاهش ترشح پرولاکتین روی دریافت غذا اعمال کرده باشد. با توجه به وجود نورون‌های حساس به گلوکز در نواحی هیپوتالاموسی از جمله VMN و LH و ارتباط سطوح گلوکز خون با رفتارهای تغذیه‌ای (Abbasnejad, 2002) و از آنجا که درپژوهش‌های قبلی تزریق اسید اسکوربیک درون پوسته هسته اکومبنس منجر به افزایش گلوکز خون شده است (Badreh *et al*., 2009). با توجه به اینکه گزارش شده که اسید اسکوربیک در طی فعالیت گلوتامین ارژیک در نورون‌ها باعث مهار مصرف گلوکز می‌شود (Maite *et al*., 2009). همین امر می‌تواند دلیل کاهش اشتها و کاهش مصرف غذا باشد. از بین ۴۵ نورون LHA که

مسئول تحریک واگی هستند حدود ۲۷ تا از آنها (۶۰٪) حساس به گلوکز هستند بنابراین اثر تعدیل‌کنندگی آوران‌های واگی به نورون‌ها ممکن است یک نقش مهم در تنظیم کوتاه‌مدت رفتارهای تغذیه‌ای داشته باشد (Thomas and Kelley, 1999). تزریق آگونیست گیرنده D_2 درون پوسته اکومبنس باعث کاهش مصرف غذا شده است که با نتایج قبلی مطابقت دارد (Badreh *et al*., 2009).

در مطالعات قبلی مشخص شده است که آگونیست‌های دوپامینی از جمله بروموکریپتین و کوئین پیرول باعث بی‌اشتهایی می‌شوند (Baptista *et al*., 1997)، در حالی که تزریق این دارو در جسم مخطط مصرف غذا را افزایش می‌دهد، تزریق درون بطنی بروموکریپتین در دوز پایین باعث افزایش مصرف غذا با افزایش مدت زمان خوردن می‌شود (Kenneth *et al*., 1987). بروموکریپتین ترشح پرولاکتین را کاهش می‌دهد (Baptista *et al*., 1997). با توجه به اینکه پرولاکتین یکی از هورمون‌های مهم در تغذیه است، بنابراین بعضی از اثرات دارو بر رفتارهای تغذیه‌ای بدین طریق اعمال می‌گردد (Baptista *et al*., 2000).

اثر تداخل مرکزی اسید اسکوربیک با بروموکریپتین نیز باعث کاهش مصرف غذا شده است ولی این کاهش مصرف غذا نسبت به گروهی که بروموکریپتین را به تنهایی دریافت کرده‌اند متعادل ترشده است اما معنی دار نیست که نشان می‌دهد که اسید اسکوربیک نتوانسته اثر کاهشی بروموکریپتین را تضعیف کند. در حالی که قبلاً گفته شده اسید اسکوربیک به عنوان یک آنتاگونیست دوپامین عمل می‌کند (Sahraei *et al*., 2007). در واقع حداقل در دوز مورد استفاده در هسته آکومبنس در رابطه با تغذیه اثر آنتاگونیستی معنی‌داری دیده نشد.

از طرفی به‌کار بردن AAO به همراه بروموکریپتین اثر اسید آسکوربیک را تخفیف داده و بنابراین با توجه به کاهش غلظت اسید آسکوربیک در این منطقه در خصوص AAO که توسط پژوهش‌های قبلی (George, 2001) گزارش شده به نظر می‌رسد نقش اسید آسکوربیک بر تغذیه را تأیید می‌کند.

تجربیات قبلی نشان داده‌اند بعد از تزریق AAO، یک کاهش بیش از ۵۰ درصدی در سطح اسید آسکوربیک خارج سلولی استریاتوم دیده می‌شود. کاهش در طی دوره ثبت، ثابت باقی مانده است (George, 2001). از آنجا که اسید آسکوربیک اثر مهاری بر تغذیه در هسته آکومبنس اعمال می‌کند و تزریق مرکزی آن باعث کاهش مصرف غذا می‌شود (Badreh *et al*., 2009)، احتمالاً اثر AAO از طریق کاهش اسید آسکوربیک به عنوان یک نورومدولاتور به اجرا در آمده باشد. تزریق AAO با حذف نسبی اسید آسکوربیک ظاهراً از طریق سیستم ضد استرس اکسیداتیو در هیپوکمپ نمی‌تواند خرابی ایجاد کند (George, 2001). ۲۰ دقیقه بعد از تزریق AAO در هیپوکمپ کاهش ۷۰ درصدی آسکوربات در همه حیوانات مورد آزمایش صورت می‌گیرد که باعث مهار رفتارهایی مثل حرکت در تست open-field، دسترسی به اشیاء جدید و ارتباطات اجتماعی با سایر رتها می‌گردد. و در مقابل تزریق نرمال سالین در گروه کنترل اثری در روی سیگنال اسید آسکوربیک نداشته است (George, 2001). در صورتی که تزریق دو طرفه AAO در هیپوکمپ پشتی اثری بر رفتار نداشته است. می‌دانیم اسید آسکوربیک معمولاً به عنوان یک آنتی اکسیدان نقش محافظتی در مقابل تجمع رادیکال آزاد سمی دارد (Ghosh *et al*., 1996). بنابراین جایی که AAO اثر می‌گذارد بایستی اثری وراء نقش آنتی‌اکسیداسیون وجود داشته باشد. اسکوربات در غلظت‌های نرمال خارج سلولی نقش تسهیل‌کننده ضروری دررفتار دارد که احتمالاً انتقال دوپامین را افزایش می‌دهد، پس این احتمال وجود دارد که AAO به گیرنده دوپامین یا به مولکول‌های دوپامین وصل می‌شود و باعث محدود کردن رفتار گردد (George, 2001).

گفته شده اثرات رفتاری AAO داخل استریاتوم ممکن است ناشی از یک بی‌نظمی موقتی انتشار دوپامین خارج سیناپسی باشد (George, 2001). این احتمال وجود دارد که نقص‌های رفتاری ناشی از تزریق AAO به استریاتوم منحصراً به علت فقدان اسکوربات استریاتوم نباشد بلکه علت یک بی‌نظمی هموستازی اسکوربات در سراسر مغز باشد (George, 2001). هیپوکمپ پشتی مانند استریاتوم میزان بالایی از اسکوربات خارج سلولی حساس به AAO دارد (Ghasemzedah *et al*., 1991). اسکوربات در غلظت‌های نرمال خارج سلولی نقش تسهیل‌کننده ضروری در رفتار دارد که احتمالاً انتقال دوپامین را افزایش می‌دهد (George, 2001).

به طور خلاصه همانطور که نتایج حاصل از این تحقیق نشان دادند افزایش سطح اسید آسکوربیک و نیز کاهش سطح آن توسط AAO در پوسته هسته آکومبنس در رفتارهای تغذیه‌ای نقش دارند و مکانیسم اثر می‌تواند مربوط به اثر مستقیم این دو ترکیب به خصوص اثر اسید آسکوربیک به عنوان یک نورومدولاتور و مداخله در عملکرد سایر نوروترانسمیترهای دخیل در تغذیه باشد و یا اینکه ناشی از نقش محافظتی اسید آسکوربیک در خصوص اثر ضد استرس اکسیداتیو آن باشد. جهت روشن شدن مکانیسم دقیق نیاز به طراحی پژوهش‌های مکمل می‌باشد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "نقش تزریق اسکوربات اکسیداز در پوسته هسته اکومبنس بر اثرات تغذیه‌ای گیرنده‌های D_2 دوپامینی موش‌های صحرایی نر بالغ" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۳۹۰ می‌باشد که با حمایت دانشگاه شهید باهنر کرمان اجرا شده است.

REFERENCES

Abbasnejad M (2002) The effect of dopamineyicsystem of VMN of Hypothalamus on Feeding, Steroid normons and Prolactin [dissertatibn], Medical University of Tehran, 46-69.

Alaei H, Esmaeili M, Pourshanazari A (2005) Ascorbic acid morphin self-administration and withdrawal symptoms in rats. Pathophysio, 12: 103-107.

Badreh F, Abbasnejad M, Derakhshani A, Jonaidi H (2009) Interaction Between Ascorbic Acid and Dopamin D2 Receptor in the Nucleus Accumbens Shell in Response to Feeding. International J Bio Chem, 3: 132-141.

Baptista T, DeBaptista EA, Hernandez L (1997) Tamoxifen prevent sulpiride induced weight gain in female rats. Pharmacol. Biochem. Behav, 57, 215-222.

Baptista T, Lacruz A, Acosta A, Colasante C (2000) Naltrexone does not prevent the weight gain and hyperphagia induced by the antipsychotic drug sulpiride in rats. Appetite, 34: 77-86.

Baptista T, Lepez ME, Tendeud A (1997) Amantadin in the treatment of neroleptic induced obesity in rats, behavioral, endocrine and neurochemical correlates. Pharmacopsyvhiat, 30: 53-54.

Boyer PD, Lardy H, Myrback K (1963) (Eds.), The Enzymes, 2nd ed., vol. 8, Academic Press, New York, p. 297-311.

Echo JA, Lamonte N, Christian G, Znamensky V, Ackerman TF, Bodnar RJ (2001) Excitatory amino acid receptor subtype agonists induce feeding in the nucleus accumbens shell in rats: opioid antagonist actions and interactions with m-opioid agonists. Brain Res, 921: 86-97.

Eipper BA, Stoffers DA, Mains RE (1992) The biosynthesis of neuropeptides: peptide alpha-amidation. Annu Rev Neurosci, 15: 57–85.

George V (2001) Rebec and Zhongrui Wang. Behavioral Activation in Rats Requires Endogenous Ascorbate Release in Striatum. Journal of Neuroscience, January 15, 21(2): 668–675.

Ghasemzedah B, Cammack J, Adams RN (1991) Dynamic changes in extracellular fluid ascorbic acid monitored by in vivo electrochemistry. Brain Res, 547: 162–166.

Ghosh MK, Chattopadhyay DJ, Chatterjee IB (1996) Vitamin C prevents oxidative damage. Free Radical Res, 6 25: 173–179.

Gonon F, Buda MR, Cespuglio Jovet. M, Pujol JF (1980) Invivo electrochemical detection of catechols in the neostriatum of anasthetized rats: dopamine or DOPAC? Nature, 286: 902-904.

Hakvoort A, Haselbach M, Galla HJ (1998) Active transport properties of porcine choroid plexus cells in culture. Brain Res, 795: 247-256.

Harrison FE, May JM (2009) Vitamin C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter SVCT2. Free Radical Biology & Medicine, 46: 719–730.

Karanth S, Yu WH, Walczewska A, Mastronardi C, McCann SM (2000) Ascorbic acid acts as inhibitory transmitter in the hypothalamus to inhibit stimulated luteinizing hormone-releasing hormone release by scavenging nitric oxide. Proc Natl Acad Sci, 1891-1896.

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

Katzung BG (2001) Basic and clinical pharmacology. Appleton and lange, 437: 65-100.

Kenneth R, Evans, Roelof E (1987) Feeding Induced by Ventricular Bromocriptine and Amphetamine: A Possible Excitatory Role for Dopamine in Eating Behavior. Behavioral Neuroscieace, 101: 591-593.

Koshikawa N, Kitamura M, Kobayashi M, Cools AR (1996) 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, 126: 185-190.

Kuo CH, Hata F, Yoshida H, Yamatodani A, Wada H (1979) Effect of ascorbic acid on release of acetylcholine from synaptic vesicles prepared from different species of animals and release of noradrenaline from synaptic vesicles of rat brain. Life Sci, 24: 911–915.

Kyrkouli SE, Stanley BG, Seirafi RD, Leibowitz SF (1990) Stimulation of feeding by galanin: anatomical localization and behavioral specificity of this peptide's effects in the brain. Peptides, 11: 995–1001.

Lee M, Dawson R (1973) Ascorbate oxidase. Journal of Biological Chem, 659-8602.

MacCarrone M, Dandrea G, Salucci ML, Avigliano L, Finazziagro A (1993) Temperature, pH and UV irradiation effects on ascorbate oxidase. Phytochemm, 32: 795–798.

Maite A, Castro FA, Beltran SB, Ilona I, Concha A (2009) Metabolic switch in brain:glucose and lactate metabolism modulation by ascorbic acid. J of Neurochem, 1471-4159.

Morris BJ (1989) Neuronal localisation of neuropeptide Y gene expression in rat brain. J Comp Neurol, 290: 358–368.

Nakashima Y, Suzue R, Sanada H, Kawada S (1970) Effect of ascorbic acid on hydroxylase activity. I. Stimulation of tyrosine hydroxylase and tryptophan-5-hydroxylase activities by ascorbic acid. J Vitaminol (Kyoto), 16: 276–280.

Neal MJ, Cunningham JR, Matthews KL, (1999) Release of endogenous ascorbic acid preserves extracellular dopamine in the mammalian retina. Invest Ophthalmol Vis Sci, 40: 2983–2987.

Odumosu A (1981) Anorectic drugs and vitamin C: role in appetite and brain ascorbic acid in guineapigs. Int J Vitam Nutr Res, 51: 247–253.

Pei G, Chun W, Jing Y, Shang Y, Yue H, Xiu L, Fang D (2006) Differential effects of drug – induced ascorbic acid release in the striatum and the nucleus accumbans of freely moving rats. Neurosci let, 399: 79-81.

Rice ME (2000) Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain. Trends in Neurosci, 23: 209-216.

Robinson SD (1998) The effect of hypothalamus and nucleus accumbens on orosensory fat preferences in rat: A literature review. Pharmacol and Experimental, 258: 208-214.

Salari S, Abbasnejad M, Badreh F, Esmaeili Mahani S (2012) The effect of oral ascorbic acid pretreatment on feeding changes following injection in nucleus accumbens shell in adult male rats. JournalTehran University Medical, 703-709.

Sahraei H, Aliabadi A, Zarrindast MR Ghoshooni H, Nasiri A, Barzegari-Sorkheh A, Yari M, Zardooz H, Hossein-Mardi L, Faraji N, Shams J (2007) Ascorbic acid antagonizes nicotine-induced place preference and behavioral sensitization in mice. European Journal of Pharmacol, 560: 42–48.

Sangeeta M, Jing-tian X, Han HA, Xiong-fei G, Chun-su Y (2004) Nucleus accumbens receives gastric vagal input. Acta Pharmacol Sin, 25: 271-275.

Savini I, Rossi A, Pierro C, Avigliano L, Catani MV (2008) SVCT1 and SVCT2: key proteins for vitamin C uptake. Amino Acids, 34: 347–355.

Shin SH, Striling RG, Hamn AS, Lim M, Wilson JX (1990) Ascorbic acid potentiates the inhibitory effect of dopamine on prolactin release a putative supplementory agent PIF. Endocrinol Exp, 24: 157-158.

Steffens AB, Strubbe JH, Balkan B, Scheurink JW (1990) Neuroendocrine mechanisms involved in regulation of body weight, food intake and metabolism. J Neuroscie Biobehav Res, 14: 305-313.

Stratford TR, Kelley AE (1999) Evidence of a functional relationship between the nucleus accumbens shell and lateral hypothalamus subserving the control of feeding behavior. J. Neurosci, 19: 11040-11048.

Thomas R, Kelley AE (1999) Evidence of a Functional Relationship between the Nucleus Accumbens shell and lateral hypothalamus subserving the control of feeding behavior. J Neurosci, 19: 11040-

11048.

Tsukaguchi H, Tokui T, Mackenzie B, Berger UV, Chen XZ, Wang Y, Brubaker RF, Hediger MA (1999) A family of mammalian Na^+-dependent L-ascorbic acid transporters. Nature, 399: 70–75.

Wen L, Chun F, Mei H, Kun X (2000) Opposite effects of sulpiride and SCH 23390 on ethanol-induced striatal ascorbic acid release in intact and 6-hydroxydopamine lesioned rats. Brain Research, 869: 31–38.

Wynne K, Stanley S, Mcgowan B, Bloom S (2005) Appetite control. Endocrino, 184: 291-318.