

## **Effect of interaction between nicotine and vitamin B<sub>12</sub> on memory consolidation in passive avoidance learning in adult male Wistar rats**

Eidi A(Ph.D)<sup>1\*</sup>, Eshraghi T(M.Sc)<sup>1</sup>, Haeri Rohani A(Ph.D)<sup>1</sup>, Eidi M(Ph.D)<sup>2</sup>, Jolaiean M(M.Sc)<sup>1</sup>

1- Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Department of Biology, Varamin Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: Jan 2012 , Accepted: 4 May 2011

### **Abstract**

**Background:** It has been indicated that there is a relationship between vitamin B<sub>12</sub> status and cognitive functioning. Measurement of serum vitamin B<sub>12</sub> is routinely performed in patients with memory loss during initial diagnosis. Noticing the role of cholinergic system and vitamin B<sub>12</sub> on memory, the aim of this experimental study was to examine the effect of the interactions between vitamin B<sub>12</sub> and nicotine on memory retention in passive avoidance learning in adult male rats.

**Materials and Methods:** The present study was an experimental one. Drugs, including vitamin B<sub>12</sub> (0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.1, and 1 μg/rat) and nicotine (0.1, 0.5, and 1 μg/rat) were administrated after training session intracerebroventricularly (i.c.v.). The drugs were used (i.c.v.) in a volume of 1μl/rat immediately after the training session. The level of memory retention was evaluated by passive avoidance learning. Twenty-four hours after training, a retention test was performed to determine long-term memory. Statistical analysis was carried out using one-way ANOVA test.

**Results:** The results showed that the administration of vitamin B<sub>12</sub> and nicotine significantly increased memory retention in rats. Nicotine significantly increased the response to vitamin B<sub>12</sub> in memory retention process.

**Conclusion:** Vitamin B<sub>12</sub> through interaction with cholinergic system acts in memory retention process.

**Keywords:** Learning, Memory, Nicotine, Rat, Vitamin B<sub>12</sub>

\*Corresponding author:

Address: Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Email: eidi@srbiau.ac.ir

## بررسی میانکنش ویتامین B<sub>12</sub> و نیکوتین بر تثبیت حافظه در یادگیری شرطی احترازی غیرفعال موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار

اکرم عیدی<sup>1\*</sup>، طاهره اشراقی<sup>2</sup>، علی حائری روحانی<sup>3</sup>، مریم عیدی<sup>4</sup>، مهسا جولاییان<sup>2</sup>

- 1- دانشیار، دکترای فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
- 2- کارشناس ارشد فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
- 3- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
- 4- دانشیار، دکترای فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 89/10/24 تاریخ پذیرش: 90/2/14

### چکیده

**زمینه و هدف:** گزارشات مبتنی بر ارتباط بین ویتامین B<sub>12</sub> و عملکرد شناختی وجود دارد. در بیماران با کاهش حافظه، اندازه‌گیری ویتامین B<sub>12</sub> سرم به صورت روزمره جهت تشخیص اولیه انجام می‌شود. با توجه به نقش سیستم کولینرژیک و ویتامین B<sub>12</sub> در فرایند حافظه، در تحقیق حاضر اثر میانکنش بین ویتامین B<sub>12</sub> و نیکوتین بر به یادآوری حافظه با استفاده شیوه احترازی غیرفعال در موش‌های صحرایی نر بالغ مورد ارزیابی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** تحقیق حاضر مطالعه‌ای تجربی است. داروها شامل ویتامین B<sub>12</sub> (دوزهای 0/01، 0/02، 0/03، 0/05، 0/1 و 1 میکروگرم بر رت) و نیکوتین (دوزهای 0/1، 0/5 و 1 میکروگرم بر رت) می‌باشند که تیمار به صورت درون بطن مغزی بلافاصله بعد از جلسه آموزش انجام گردید. تمامی داروها به صورت درون بطن مغزی در حجم 1 میکرولیتر بلافاصله پس از جلسه آموزش تیمار گردید. ارزیابی میزان به یادآوری حافظه با استفاده از شیوه احترازی غیر فعال صورت گرفت. آزمون بیادآوری 24 ساعت پس از جلسه آموزش جهت تعیین حافظه دراز مدت انجام گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ویتامین B<sub>12</sub> و نیکوتین موجب افزایش معنی‌داری در به یادآوری حافظه در حیوانات گردیده است. نیکوتین موجب افزایش معنی‌داری در پاسخ ویتامین B<sub>12</sub> در به یادآوری حافظه در حیوانات می‌گردد. **نتیجه‌گیری:** احتمالاً ویتامین B<sub>12</sub> از طریق تحت تأثیر قرار دادن سیستم کولینرژیک در فرایند به یادآوری حافظه عمل می‌کند.

**واژگان کلیدی:** یادگیری، حافظه، نیکوتین، موش صحرایی، ویتامین B<sub>12</sub>

\* نویسنده مسئول: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

## مقدمه

ویتامین B12 (سیانو کبالمین)، ویتامین محلول در آب با نقش کلیدی در عملکرد طبیعی مغز، سیستم عصبی و خون سازی می باشد. این ویتامین در متابولیسم تمامی سلول های بدن درگیر است و به خصوص در سنتز DNA و هم چنین سنتز اسیدهای چرب و تولید انرژی موثر است (1). ویتامین B12 دارای وزن مولکولی 490 دالتون و حاوی 4 درصد کبالت است. در ابتدا ویتامین B12 از طریق ارتباط آن با بیمار کم خونی کشنده شناخته می شد. کمبود ویتامین B12 که بیشتر به علت اختلال در عمل جذب ویتامین رخ می دهد باعث بروز بیماری کم خونی وخیم و پیدایش گویچه های سرخ غیرطبیعی از نوع مگالوبلاست در خون می گردد (2). کمبود ویتامین B12 می تواند موجب تخریب به خصوص مغز و سیستم عصبی شود. نشانه هایی مانند بی حالی، افسردگی و کاهش حافظه ممکن است مشاهده شوند. کمبود ویتامین B12 هم چنین می تواند موجب نشانه هایی از سرخوشی و جنون شود (3). علائم بیماری روانی مانند کاهش تنزل شناختی و زوال عقل متعاقب آن، در ارتباط با کمبود ویتامین B12 و اسید فولیک می باشد (4). کمبود ویتامین B12 به چند دلیل می تواند اتفاق بیفتد که از آن جمله می توان اختلال در بلع و جذب یا عدم دریافت ویتامین B12 را نام برد. با این وجود یکی از دلایل کمبود این ویتامین می تواند نیاز بیش از اندازه و افزایش دفع یا تخریب آن باشد (5). ویتامین B12 نقش اساسی در عملکرد سیستم عصبی مرکزی دارد و در تبدیل هموسیستئین به متیونین نقش داشته که این عمل توسط آنزیم متیونین سنتتاز صورت می گیرد. متیونین برای سنتز نوکلئوتید و متیلاسیون ژنومی و غیرژنومی ضروری می باشد. کمبود ویتامین احتمالاً منجر به افزایش سطوح هموسیستئین می گردد (6، 7). مطالعات آزمایشگاهی نشان داده اند که هموسیستئین نورو توکسینی است که احتمالاً از طریق فعال کردن گیرنده های (N-methyl-D-Aspartate) NMDA و تخریب DNA عمل می کند. فعالیت بیش از حد و غیرطبیعی گیرنده های NMDA توسط هموسیستئین یا متابولیت های اکسیده آن منجر به بالا رفتن میزان کلسیم

درون سلولی، آزادسازی پروتئین های سلولی و مرگ سلولی می شود که می تواند به کمبود ویتامین B12 مربوط شود (8). اختلال در فرآیندهای متیلاسیون به علت افزایش هموسیستئین دلیل اصلی بیوشیمیایی اختلال شناختی ناشی از کمبود ویتامین B12 می باشد (6). ویتامین B12 نمی تواند توسط گیاهان یا حیوانات ساخته شود و فقط باکتری ها آنزیم مورد نیاز برای سنتز آن را دارا می باشند. این ویتامین توسط باکتری های موجود در دستگاه گوارش نشخوارکنندگان و هم چنین توسط باکتری های روده ای انسان سنتز می شود که قسمتی از آن قابل جذب می باشد. این ویتامین از راه روده جذب شده و در کبد ذخیره می شود (9). نیاز متوسط روزانه انسان به ویتامین B12 حدود 3 میکروگرم تعیین شده است. این ویتامین به صورت انحصاری در غذاهایی با منشأ حیوانی یافت می شود (10).

استیل کولین یکی از نوروترنسمیترهای تحریکی هیپوکامپ می باشد که به طور عمده از فیبرهای سپتوهیپوکامپی آزاد می شود. به طور معمول ورودی کولینرژیک به هیپوکامپ از سپتوم میانی و دسته مورب منشأ می گیرد. این مسیر اهمیت و نقش مهمی در انواع یادگیری دارد (11). گیرنده های استیل کولین نیکوتینی کانال های کاتیونی هستند که توسط نیکوتین تحریک می شوند. نیکوتین آلکالوئیدی است که در خانواده گیاهان سولاناسه آ (Solanacea) یافت می شود و عمدتاً در تنباکو وجود دارد. در مقادیر پایین تر در گوجه فرنگی، سیب زمینی، بادمجان و فلفل سبز نیز وجود دارد. گیرنده های نیکوتینی در یادگیری و حافظه در هیپوکامپ نقش دارند. علاوه بر این مطالعات صورت گرفته بر روی موش های ترانس ژنیک فاقد گیرنده های نیکوتینی حاکی از تخریب حافظه می باشد. تزریق آگونیست های کولینرژیک موجب برگشت حافظه می شود (12). تاکنون تعاریف متعددی از یادگیری ارائه شده است که اکثر آنها یادگیری را به عنوان یک پدیده روان شناختی و رفتاری معرفی می کنند، در صورتی که می توان یادگیری را تغییر سازشی ایجاد شده در رفتار توسط تجربه تعریف کرد. حافظه ارتباط نزدیکی با یادگیری دارد و

شامل ذخیره‌سازی و یادآوری تجربیات قبلی می‌باشد. تمامی یادگیری‌ها نشانی از تجربه دارند و با فراموش شدن تمامی تجربه‌های قبلی یادگیری صورت نمی‌گیرد (۱۴،۱۳).

حافظه ویژگی از مغز انسان است که نواحی مختلفی مانند کورتکس مغزی و چندین بخش از سیستم لیمبیک در آن دخالت دارند. لوب تمپورال و تشکیلات هیپوکامپی جهت انتقال حافظه‌های کوتاه مدت به بلند مدت درگیر می‌باشند (15). نئوکورتکس و بخش‌های مختلفی از سیستم لیمبیک در ذخیره نمودن حافظه بلند مدت دخالت دارند. کورتکس هیپوکامپ با نواحی ارتباطی حسی از یک طرف و هیپوکامپ از طرف دیگر در ارتباط است (16). احتمالاً این ارتباطات کورتکس پاره‌هیپوکامپ را مناسب برای تثبیت حافظه می‌نماید (۱۸،۱۷).

موارد مختلفی جهت درمان با تقویت حافظه توصیه می‌شود. در تحقیق حاضر میانکنش بین ویتامین B12 و نیکوتین بر میزان به یادآوری حافظه در موش‌های صحرایی نر بالغ به روش احترازی غیرفعال بررسی شده است.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (Wistar) با وزن اولیه 200-250 گرم قبل از جراحی استفاده گردید. حیوانات با دسترسی به آب و غذای کافی و داخل اطاقی با درجه حرارت کنترل شده ( $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد) و تحت دوره نوری 12 ساعت نور و 12 ساعت تاریکی نگه‌داری گردیدند. تمامی آزمایشات رفتاری در طول دوره روشنایی بین ساعات 8 تا 13 انجام شد. 7 سر حیوان در هر گروه استفاده شدند که هر حیوان تنها یک بار استفاده گردید.

در تمامی حیوانات یک کانول استیلی ضد زنگ درون بطن جانبی راست مغز کاشته شد. حیوانات با کتامین هیدروکلراید (100 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلزین (100 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. کانول توسط دستگاه استریوتاکسی در 0/8 میلی‌متر خلفی و

1/6 میلی‌متر سمت جانبی برگما قرار گرفت و تا عمق 3/4 میلی‌متر از سطح جمجمه فرو رفت (19). سپس موقعیت نوک کانول در بطن جانبی با استفاده از پیچ و آکریل دندانپزشکی به طور دائمی در جمجمه تثبیت گردید.

جهت آموزش از جعبه‌ای استفاده شد که دارای دو بخش تاریک و روشن با اندازه‌های مساوی (30×20×20 سانتی‌متر) بود که این دو بخش توسط یک در گیوتینی که می‌تواند بالا و پایین برود، از هم جدا شده بودند. کف محفظه‌ها دارای میله‌های فلزی به قطر 2/5 میلی‌متر و با فاصله 1 سانتی‌متر از یکدیگر بوده و میله‌های موجود در محفظه تاریک یک در میان به قطب مثبت و منفی مربوط بودند.

جهت آموزش، تمامی حیوانات به مدت یک ساعت قبل از آزمایش در دستگاه شاتل باکس (به منظور عادت نمودن) قرار گرفتند. پس از آن هر حیوان به آرامی در قسمت روشن برای مدت 5 ثانیه قرار داده شد. سپس در گیوتینی باز شده و تاخیر زمانی که حیوان جهت ورود به محفظه تاریک دارد، اندازه‌گیری شد. حیواناتی که بیش از 100 ثانیه برای عبور به سمت دیگر منتظر می‌ماندند، از آزمایش حذف شدند. بعد از این که حیوان با چهار پنجه خود به قسمت بعدی عبور کرد، در بسته شده و موش از دستگاه خارج گردید. آزمایش عادت بعد از 30 دقیقه تکرار شده و بعد از گذشت 30 دقیقه، حیوان در بخش روشن دستگاه قرار داده شده و به محض ورود حیوان به بخش تاریک، در گیوتینی به آرامی بسته و شوک ملایمی به میزان 1 میلی‌آمپر به مدت 2 ثانیه به حیوان اعمال شد. بعد از گذشت 20 ثانیه حیوان از بخش تاریک دستگاه خارج و 2 دقیقه بعد موش به روش مشابه قبلی دوباره مورد آزمایش قرار می‌گرفت. اگر موش صحرایی در مدت 120 ثانیه به بخش تاریک وارد نمی‌شد، نشان‌دهنده آموزش حیوانات بود.

بلافاصله پس از جلسه آموزش، حیوانات تزریقات درون بطنی را از طریق کانول دریافت کردند. موش‌های صحرایی به آرامی با دست نگه‌داشته شدند. سیخ از کانول راهنما برداشته شده و سرنگ تزریق 27 gauge (0/5)

پایان یافت. در طول انجام این مرحله هیچ شوک الکتریکی وجود نداشت. پس از انجام آزمایشات رفتاری و ثبت داده‌ها جهت تعیین صحت مکان تزریق، مقاطعی از ناحیه مورد نظر تهیه شده و از نظر آناتومیکی مورد بررسی قرار گرفت. بعد از انجام بررسی‌های بافتی در صورت عدم تطابق محل تزریق با اطلس، داده‌های مربوط به مطالعات رفتاری حیوان مورد نظر از بررسی‌های آماری حذف گردید.

در پایان تمامی داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف از استاندارد تهیه شده و با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه و با استفاده از نرم افزار SPSS مورد سنجش آماری قرار گرفتند.

#### یافته‌ها

نتایج بررسی گویای آن است که دوزهای 0/01، 0/02 و 0/03 میکروگرم بر رت ویتامین B12 تأثیر معنی‌داری بر زمان STL در مقایسه با گروه‌های شاهد ایجاد نمی‌کند، در حالی که دوزهای 0/05، 0/1 و 1 میکروگرم بر رت ویتامین B12 موجب افزایش معنی‌دار STL در مقایسه با گروه شاهد می‌شود. لازم به ذکر است که اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و گروه کنترل بر پارامتر STL دیده نشد که گواه این مطلب است که عمل جراحی کاشت کانولا و تزریق سرم فیزیولوژیک تأثیر معنی‌داری بر سطح یادگیری ایجاد نمی‌کند (نمودار 1).

هم‌چنین نتایج این بررسی نشان داد که دوزهای 0/1 و 0/5 میکروگرم بر رت نیکوتین، تأثیر معنی‌داری بر زمان STL در مقایسه با گروه‌های شاهد ایجاد نمی‌کند، در حالی که دوز 1 میکروگرم بر رت نیکوتین موجب افزایش معنی‌دار STL در مقایسه با گروه شاهد می‌شود (نمودار 2).

نتایج نشان دادند که تداخل عمل معنی‌داری بین نیکوتین و ویتامین B12 وجود دارد و نیکوتین می‌تواند اثر تقویتی ویتامین B12 بر حافظه را افزایش دهد (نمودار 3).

میلی‌متر دورتر از نوک کانول راهنمای کاشته شده) وارد شد. سوزن تزریق با یک لوله پلی‌اتیلنی به سرنگ هامیلتون 5 میکرولیتری متصل گردیده و یک میکرولیتر از ماده مورد نظر تزریق گردید. سوزن تزریق در محل خود برای 30 ثانیه پس از تزریق نگه‌داشته شد تا به انتشار داروها اجازه داده شود. تزریق در تمامی گروه‌ها بین ساعات 8-12 انجام شد. حیوانات به 14 گروه 7 تایی تقسیم شدند:

گروه 1 (گروه کنترل): حیوانات این گروه تحت عمل جراحی قرار نگرفته و تیماری دریافت نکردند.

گروه 2 (گروه شاهد یا Sham): حیوانات این گروه تحت عمل جراحی قرار گرفته و سرم فیزیولوژیک را به عنوان حلال داروها دریافت کردند.

گروه‌های 3-8 (گروه دریافت‌کننده ویتامین B12): حیوانات این گروه تحت عمل جراحی قرار گرفته و ویتامین B12 را به ترتیب در دوزهای 0/01، 0/02، 0/03، 0/05، 0/1 و 1 میکروگرم بر رت دریافت کردند.

گروه‌های 9-11 (گروه دریافت‌کننده نیکوتین): حیوانات این گروه تحت عمل جراحی قرار گرفته و نیکوتین را به ترتیب در دوزهای 0/1، 0/5 و 1 میکروگرم بر رت دریافت کردند.

گروه‌های 12-14 (گروه دریافت‌کننده توام ویتامین B12 و نیکوتین): حیوانات این گروه تحت عمل جراحی قرار گرفته و ویتامین B12 را با دوزهای 0/02، 0/03، 0/05 میکروگرم بر رت در حضور یا فقدان نیکوتین با دوز 0/5 میکروگرم بر رت دریافت کردند. حجم تیمار در تمامی گروه‌ها 1 میکرولیتر بود.

24 ساعت بعد از آموزش، آزمون بیادآوری برای مشخص کردن حافظه طولانی مدت انجام شد. هر حیوان در بخش روشنایی برای مدت 5 ثانیه قرار گرفت. در گیوتینی را به آرامی باز نموده و تاخیر زمانی که حیوان برای اولین بار وارد بخش تاریک شود به عنوان تاخیر در زمان ورود به بخش تاریک (Step-through latency-STL) اندازه‌گیری شد. آزمایش هنگامی که حیوان وارد بخش تاریک شد یا در بخش روشن برای 300 ثانیه باقی ماند،

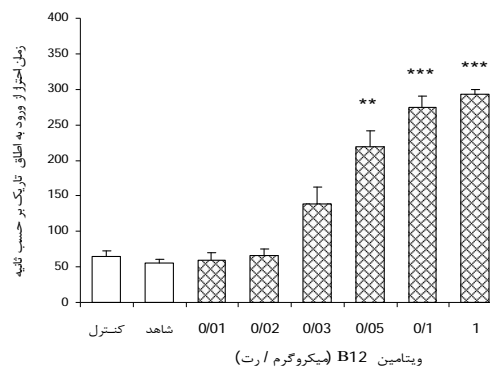
**بحث**

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ویتامین B12 و نیکوتین موجب افزایش معنی داری در میزان به یادآوری حافظه می‌شوند. همچنین میانکنش معنی داری بین عملکرد نیکوتین و ویتامین B12 بر روند به یادآوری حافظه وجود دارد و نیکوتین می‌تواند اثر تقویتی ویتامین B12 بر حافظه را افزایش دهد.

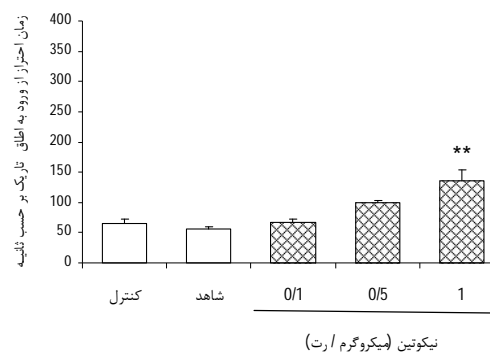
یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های مغز توانایی آن در ذخیره و به یادآوردن بخش عمده آن می‌باشد. در این جاسه مفهوم وابسته به یکدیگر یعنی یادگیری، حافظه و فراموشی مطرح می‌گردد. یادگیری فرآیندی است که طی آن اطلاعات جدید توسط سیستم عصبی کسب می‌گردد. حافظه فرآیندی است که اطلاعات ذخیره شده با گذشت زمان حذف می‌گردد (20). مطالعات زیادی در مورد اثر ویتامین B12 انجام گرفته و نقش ویتامین B12 در فرایند حافظه و یادگیری مورد توجه قرار گرفته است. در این مطالعه جهت بررسی اثر ویتامین B12 از دوزهای مختلف آن استفاده شد. نتایج حاصل نشان دادند که ویتامین B12 موجب افزایش معنی داری در میزان تثبیت و به یادآوری حافظه در موش‌های صحرایی می‌گردد.

در سال‌های اخیر مطالعه روی ویتامین B12 بسیار افزایش یافته است. این ویتامین یکی از مهم‌ترین عناصر غذایی است که از طریق رژیم غذایی دریافت می‌گردد و به حفظ و ابقاء عملکردهای طبیعی مغز کمک می‌کند. بنابراین کمبود ویتامین B12 می‌تواند منجر به تعدادی از اختلالات رفتاری و روانی مانند افسردگی و اسکیزوفرنی و فراموشی شود (21).

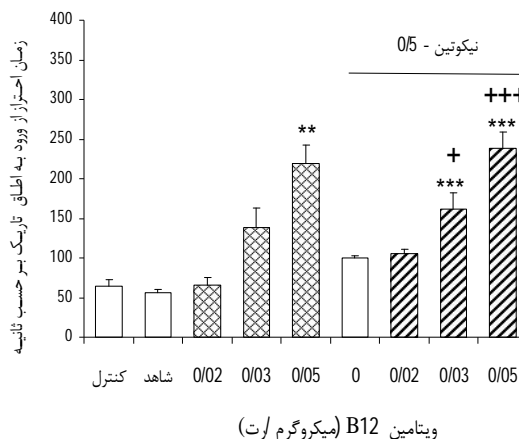
اهمیت متابولیسم ویتامین B12 به این حقیقت برمی‌گردد که این ویتامین در چند مسیر بیوشیمیایی که برای عملکردهای صحیح نورولوژیکی و هماتولوژیکی اساسی هستند، ضروری می‌باشد. پیامدهای نورولوژیکی می‌تواند شامل آسیب تضعیف کننده دائمی سیستم عصبی مرکزی و محیطی مانند نوروپاتی محیطی و تخریب حاد نخاع باشد (22).



نمودار 1. اثر تزریق درون بطنی ویتامین B12 می‌دهد.  $p < 0/001$  \*\*\*،  $p < 0/01$  \*\* اختلاف از گروه شاهد را نشان می‌دهد.



نمودار 2. اثر تزریق درون بطنی نیکوتین  $p < 0/01$  \*\* اختلاف از گروه شاهد را نشان می‌دهد.



نمودار 3. اثر تزریق درون بطنی ویتامین B12 با دوزهای 0/02، 0/03، 0/05 میکروگرم بر رت توام با نیکوتین با دوز 0/05 میکروگرم بر رت بر مدت زمان احتراز از ورود به اتاق تاریک می‌دهد.  $p < 0/01$  \*\*،  $p < 0/001$  \*\*\* اختلاف از گروه شاهد را نشان می‌دهد.  $p < 0/05$  + و  $p < 0/001$  +++ اختلاف از گروه نیکوتین را نشان می‌دهد.

هستند (34، 35). نقش سیستم‌های نیکوتینی کولینرژیک در مغز در عملکردهای شناختی مانند توجه، یادگیری و حافظه در حیوانات آزمایشگاهی و در انسان‌ها مشخص شده است (36).

مطالعات بسیاری نیز حاکی از این است که نیکوتین موجب افزایش ویژگی‌های شناختی در حیوانات و انسان‌ها می‌شود (37-39). نیکوتین می‌تواند به یادآوری را در روش احترازی در موش و رت افزایش دهد. گیرنده‌های نیکوتینی، کانال‌های یونی می‌باشند که شامل انواع مختلف هترومر (دارای زیرواحدهای  $\alpha$  و  $\beta$ ) و همومر (فقط  $\alpha$ ) می‌باشند. مشخص شده است که نیکوتین در مغز رت بیشترین تمایل را برای اتصال گیرنده نوع  $\alpha 4 \beta 2$  دارد و پاسخ‌های خود را از طریق اتصال به این گیرنده‌ها انجام می‌دهد (40).

آنتاگونیست‌های گیرنده‌های نیکوتینی باعث نقص در یادگیری می‌شوند. دکر و همکارانش در سال 1995 نشان دادند که تیمار آنتاگونیست‌های نیکوتینی STL را در تست احترازی غیرفعال کاهش می‌دهد. هر یک از آنتاگونیست‌های نیکوتینی مانند آگونیست‌های آن اثرات خود را از طریق اتصال به زیرواحد عملکردی خاصی اعمال می‌کند. برای مثال مکامیل آمین به عنوان آنتاگونیست نیکوتینی، زیرواحد  $\alpha 7$  را بلوکه می‌کند، ولی هنوز مشخص نشده است که سوکسینیل کولین کدام نوع از گیرنده‌های نیکوتینی را بلوکه می‌نماید (40).

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان دادند که تزریق درون بطنی ویتامین B12 و نیکوتین به صورت وابسته به دوز، میزان به یادآوری حافظه را در روش احترازی غیرفعال افزایش می‌دهند. هم‌چنین تداخل معنی‌داری بین تزریق توام ویتامین B12 و نیکوتین در میزان پاسخ‌های شرطی شده در شیوه احترازی غیرفعال وجود دارد. ویتامین B12 قادر به تقویت اثرات نیکوتین بر به یادآوری حافظه می‌باشد.

اگرچه مکانیسمی که ویتامین B12 موجب اثرات نورولوژیکی می‌شود به خوبی شناخته نشده است، افزایش جذب آن از طریق رژیم غذایی و مکمل‌ها احتمالاً نقش مهمی در جلوگیری از اختلالات نورولوژیکی و روانشناختی دارد. چندین مطالعه تجربی نیز نشان دادند که ویتامین B12 می‌تواند نوروون‌های مرکزی را از غلظت‌های بالای گلوتامات محافظت کند (23). این موضوع پیشنهاد می‌کند که ویتامین B12 فقط برای عملکرد طبیعی مغز مورد نیاز نمی‌باشد بلکه یک نقش حفاظتی در برابر سموم تولید شده تحریک کننده مغز را نیز ایفا می‌کند. اگرچه مکانیسم زمینه‌ساز اثرات حفاظت کننده نوروونی ویتامین B12 مبهم باقی می‌ماند (24).

ویتامین B12 در پایداری و سلامت سلول‌های عصبی و گلبول‌های قرمز خون نقش دارد. کمبود ویتامین B12 خصوصاً در افراد مسن و افراد با رژیم غذایی گیاهی می‌تواند موجب چندین عارضه و اختلال از جمله کاهش حافظه شود. گزارش شده است که در افراد آلزایمری بدون کمبود ویتامین B12، تجویز این ویتامین نمی‌تواند در درمان بیماری و بهبود حافظه موثر باشد. هرچند ویتامین B12 به عنوان مهم در یک رژیم غذایی سالم تلقی می‌شود (25، 26).

نیکوتین ماده روان‌گردان اولیه‌ای است که از تنباکو به دست آمده و به دلیل اثراتش در افزایش شناخت به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است. مطالعات انجام شده بر روی مصرف‌کنندگان تنباکو ثابت کرده است که کمبودهای شناختی ایجاد شده در اثر پرهیز از سیگار کشیدن در این افراد می‌تواند با تجویز نیکوتین به حالت اولیه برگردد (27). گزارش شده است که نیکوتین دارای توانایی حفاظت نوروونی در مدل‌های حیوانی و در تجربیات آزمایشگاهی می‌باشد (28-30). هم‌چنین این امر در حیوانات تازه متولد شده نیز به اثبات رسیده است (28). اثرات نیکوتین بر روی حافظه و یادگیری توسط گیرنده‌های استیل کولین نیکوتینی  $\alpha 4 \beta 2$  در هیپوکامپ میانجی‌گری می‌شود (31-33) و می‌تواند موجب بروز تغییراتی در ملکول‌های پیام‌رسان سلولی گردد که این ملکول‌ها زمینه‌ساز حافظه دراز مدت

9. Carmel R, Green R, Rosenblatt DS, Watkins D. Update on cobalamin, folate, and homocysteine. *ASH Education Program Book*. 2003; 2003(1):62-81.
10. Shahbazi P, Maleknia N. *General Biochemistry*. 24<sup>nd</sup> ed. Tehran: University Press; 2005:120-8.
11. Galey D, Destrade C, Jaffard R. Relationships between septo-hippocampal cholinergic activation and the improvement of long-term retention produced by medial septal electrical stimulation in two inbred strains of mice. *Behavioural brain research*. 1994; 60(2): 183-9.
12. Levin E, Bradley A, Addy N, Sigurani N. Hippocampal [alpha] 7 and [alpha] 4 [beta] 2 nicotinic receptors and working memory. *Neuroscience*. 2002; 109(4):757-65.
13. Wang JH, Ko GYP, Kelly PT. Cellular and molecular bases of memory: synaptic and neuronal plasticity. *Journal of clinical neurophysiology*. 1997; 14(4):264-93.
14. Hölscher C, McGlinchey L, Anwyl R, Rowan MJ. HFS-induced long-term potentiation and LFS-induced depotentiation in area CA1 of the hippocampus are not good models for learning. *Psychopharmacology*. 1997; 130(2):174-82.
15. Desimone R. The physiology of memory: recordings of things past. *Science*. 1992; 258: 242-6.
16. Zola-Morgan S, Squire LR, Clower RP, Rempel NL. Damage to the perirhinal cortex exacerbates memory impairment following lesions to the hippocampal formation. *The Journal of neuroscience*. 1993;13(1):251-65.
17. Klingberg T, Roland PE, Kawashima R. The human entorhinal cortex participates in associative memory. *Neuroreport: An International Journal for the Rapid Communication of Research in Neuroscience*. 1994; 6:57-60.
18. Jerusalinsky D, Ferreira MBC, Walz R, Da Silva RC, Bianchin M, Ruschel AC, et al. Amnesia by post-training infusion of glutamate receptor antagonists into the amygdala, hippocampus, and entorhinal cortex. *Behavioral and Neural Biology*. 1992;58(1):76-80.
19. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Sydney: Academic Press (Sydney and Orlando), 2<sup>rd</sup> ed, 1986.

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پروژه پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی گرایش فیزیولوژی جانوری تحت عنوان " بررسی میانکنش بین ویتامین B12 و سیستم کولینرژیک بر میزان به یادآوری حافظه در موش های صحرایی نر بالغ " می باشد. نویسندگان مقاله از حوزه معاونت محترم پژوهشی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی جهت حمایت مالی در انجام این پروژه صمیمانه تشکر و سپاسگزاری می نماید.

## منابع

1. Reynolds E. Neurological aspects of folate and vitamin B12 metabolism. *Clinics in haematology*. 1976;5(3):661-96.
2. Sethi N, Robilotti E, Sadan Y. Neurological Manifestations of Vitamin B-12 Deficiency. *The Internet Journal of Nutrition and Wellness*. 2005; 2(1):61-3.
3. Masalha R, Chudakov B, Muhamad M, Rudoy I, Volkov I, Wirguin I. Cobalamin-responsive psychosis as the sole manifestation of vitamin B12 deficiency. *The Israel Medical Association journal: IMAJ*. 2001;3(9):701-3.
4. Bell IR, Edman JS, Marby DW, Satlin A, Dreier T, Liptzin B, et al. Vitamin B<sub>12</sub> and folate status in acute geropsychiatric inpatients: Affective and cognitive characteristics of a vitamin nondeficient population. *Biological psychiatry*. 1990;27(2):125-37.
5. Herbert V. The 1986 Herman Award Lecture. Nutrition science as a continually unfolding story: the folate and vitamin B-12 paradigm. *American journal of clinical nutrition*. 1987;46:387-402.
6. Moretti R, Torre P, Antonello RM, Cattaruzza T, Cazzato G, Bava A. Vitamin B12 and folate depletion in cognition: a review. *Neurology India*. 2004;52(3):310-8.
7. Reynolds E. Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. *The Lancet Neurology*. 2006; 5(11): 949-60.
8. Gortz P, Hoinkes A, Fleischer W, Otto F, Schwahn B, Wendel U, et al. Implications for hyperhomocysteinemia: not homocysteine but its oxidized forms strongly inhibit neuronal network activity. *Journal of the neurological sciences*. 2004;218(1-2):109-14.



20. Shepherd GM. Neurobiology. Newyork: Oxford University Press, 3rd ed, 1994:585-602.
21. McCaddon A, Regland B, Hudson P, Davies G. Functional vitamin B12 deficiency and Alzheimer disease. *Neurology*. 2002; 58(9): 1395-9.
22. Hector M, Burton JR. What are the psychiatric manifestations of vitamin B<sup>12</sup> deficiency? *Journal of the American Geriatrics Society*. 1988;36:1105-12.
23. Kikuchi M, Kashii S, Honda Y, Tamura Y, Kaneda K, Akaike A. Protective effects of methylcobalamin, a vitamin B12 analog, against glutamate-induced neurotoxicity in retinal cell culture. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1997; 38(5):848-54.
24. Akaike A, Tamura Y, Sato Y, Yokota T. Protective effects of a vitamin B12 analog, methylcobalamin, against glutamate cytotoxicity in cultured cortical neurons. *European journal of pharmacology*. 1993; 241(1): 1-6.
25. van Dyck CH, Lyness JM, Rohrbaugh RM, Siegel AP. Cognitive and psychiatric effects of vitamin B12 replacement in dementia with low serum B12 levels: a nursing home study. *Int Psychogeriatr*. 2008;17:1-10.
26. Lin YT, Lin MH, Lai HY, Chen LK, Hwang SJ, Lan CF. Regular vitamin B<sub>12</sub> supplementation among older Chinese men in a veterans care home in Taiwan. *Archives of gerontology and geriatrics*. 2009;49(1):186-9.
27. Atzori G, Lemmonds CA, Kotler ML, Durcan MJ, Boyle J. Efficacy of a nicotine (4 mg)-containing lozenge on the cognitive impairment of nicotine withdrawal. *Journal of clinical psychopharmacology*. 2008;28(6):667-74.
28. Andresen JH, Saugstad OD. Effects of nicotine infusion on striatal glutamate and cortical non-protein-bound iron in hypoxic newborn piglets. *Neonatology*. 2008;94(4):284-92.
29. Sadis C, Teske G, Stokman G, Kubjak C, Claessen N, Moore F, et al. Nicotine protects kidney from renal ischemia/reperfusion injury through the cholinergic anti-inflammatory pathway. *PLoS One*. 2007;2(5):e469.
30. Ulloa L, Wang P. The neuronal strategy for inflammation. *Sepsis: new insights, new therapies*. 2007:223-37.
31. Davis JA, Gould TJ.  $\beta$ 2 subunit-containing nicotinic receptors mediate the enhancing effect of nicotine on trace cued fear conditioning in C57BL/6 mice. *Psychopharmacology*. 2007; 190(3): 343-52.
32. Davis JA, Gould TJ. The effects of DHBE and MLA on nicotine-induced enhancement of contextual fear conditioning in C57BL/6 mice. *Psychopharmacology*. 2006;184(3):345-52.
33. Davis JA, Kenney JW, Gould TJ. Hippocampal  $\alpha$ 4 $\beta$ 2 nicotinic acetylcholine receptor involvement in the enhancing effect of acute nicotine on contextual fear conditioning. *The Journal of neuroscience*. 2007; 27(40): 10870-7.
34. Raybuck JD, Gould TJ. Extracellular signal-regulated kinase 1/2 involvement in the enhancement of contextual fear conditioning by nicotine. *Behavioral neuroscience*. 2007; 121(5): 1119-24.
35. Walters CL, Cleck JN, Kuo Y, Blendy JA.  $\mu$ -opioid receptor and CREB activation are required for nicotine reward. *Neuron*. 2005; 46(6): 933-43.
36. Levin ED, McClernon FJ, Rezvani AH. Nicotinic effects on cognitive function: behavioral characterization, pharmacological specification, and anatomic localization. *Psychopharmacology*. 2006;184(3):523-39.
37. Jones GMM, Sahakian B, Levy R, Warburton DM, Gray J. Effects of acute subcutaneous nicotine on attention, information processing and short-term memory in Alzheimer's disease. *Psychopharmacology*. 1992; 108(4):485-94.
38. Gattu M, Pauly JR, Boss KL, Summers JB, Buccafusco JJ. Cognitive impairment in spontaneously hypertensive rats: role of central nicotinic receptors. I. *Brain research*. 1997; 771(1): 89-103.
39. Levin ED, Simon BB. Nicotinic acetylcholine involvement in cognitive function in animals. *Psychopharmacology*. 1998; 138(3): 217-30.
40. Decker MW, Brioni JD, Bannon AW, Arneric SP. Diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors: lessons from behavior and implications for CNS therapeutics. *Life sciences*. 1995; 56(8): 545-70.