

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОТЕКТИВНОЙ РОЛИ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ОТНОШЕНИИ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СВИНЦА

**О.В. Карпухина<sup>1,3</sup>, С.Б. Бокиева<sup>2</sup>, К.З. Гумаргалиева<sup>3</sup>, А.Н. Иноземцев<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> Кафедра высшей нервной деятельности, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Северо-Осетинский государственный университет им. К. Хетагурова, г. Владикавказ, Россия

<sup>3</sup> ФГУН Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва, Россия

**РЕЗЮМЕ.** Исследовано влияние внутрибрюшинной инъекции аскорбиновой кислоты в дозе 250 мг/кг и ацетата свинца в дозе 15 мг/кг по отдельности и сочетанно на формирование в челночной камере условной реакции активного избегания, служащей экспериментальной моделью обучения и памяти, у крыс. Эксперимент проводился в течение 5 сеансов с интервалом в один день. Для определения влияния ацетата свинца и аскорбиновой кислоты на обучение и память в зависимости от времени их инъекции, были выполнены три серии опытов: 1) инъекции раствора ацетата свинца за 5 ч и раствора аскорбиновой кислоты за 2 ч перед началом каждого эксперимента; 2) инъекции раствора ацетата свинца за 24 ч, раствора аскорбиновой кислоты и раствора ацетата свинца за 2,5 ч до каждого опыта; 3) инъекция раствора ацетата свинца за 24 ч, раствора ацетата свинца и аскорбиновой кислоты за 0,5 ч до начала опыта. Установлено, что введение аскорбиновой кислоты оказало положительное влияние на формирование условной реакции избегания у крыс как в норме, так и при воздействии ацетата свинца, если она вводилась до него или после. Это означает, что аскорбиновая кислота уменьшает последствия как болевого стресса, вызываемого током, так и окислительного стресса, вызываемого тяжёлым металлом. В обоих случаях ацетат свинца уменьшал активность аскорбиновой кислоты, так что при сочетанном введении агентов выработка реакции избегания была хуже, чем при введении антиоксиданта без тяжёлого металла. Аскорбиновая кислота при одновременной инъекции с ацетатом свинца за 0,5 ч до опыта не препятствовала его нейротоксическому угнетению обучения, и уровень избегания при одновременной инъекции не отличался от такового при введении одного ацетата свинца.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** обучение, избегание, челночная камера, свинец, антиоксиданты, аскорбиновая кислота.

### ВВЕДЕНИЕ

В последние годы катастрофически увеличилась техногенная нагрузка на окружающую среду, что вызывает большую озабоченность (Онищенко и др., 2002; Скальный и др., 2017). Среди большого разнообразия загрязнителей особую роль играют тяжёлые металлы (ТМ), оказывающие многостороннее отрицательное влияние на организм, в том числе они инициируют каскад нейродеструктивных расстройств (Farina et al., 2011; Aschner, Costa, 2015; Jan et al., 2015). Интерес представляют установленные в последнее время неожиданные эффекты совместного действия ТМ и лекарственных средств. Так, со-

четанное влияние свинца и пирacetama увеличило нейротоксичность по сравнению с действием одного металла (Inozemtsev et al., 2008;), а семакса с молибденом – к усилению ноотропной активности пептида (Иноземцев и др. 2017).

Одними из наиболее распространённых нейротоксикантов, нарушающих баланс микроэлементов в организме, являются соединения свинца (Скальный и др., 2002). Свинец ухудшает синаптическую передачу и пластичность нейронов (Weisskopf et al., 2007), влияет на окислительное фосфорилирование, окисление глюкозы и синтез микротрубочек (Stewart et al., 2002). Токсичность свинца приводит к энцефалопатии с

\* Адрес для переписки:

**Иноземцев Анатолий Николаевич**  
E-mail: a\_inozemtsev@mail.com

прогрессирующей дегенерацией мозга, что приводит к неврологическим расстройствам, деменции и поведенческим нарушениям (Sanders et al., 2009). Даже низкий уровень кумулятивного воздействия свинца отрицательно влияет на когнитивную функцию, в том числе скорость обработки информации, память и обучение (Shih, et al. 2006, 2007; Weisskopf et al., 2007).

Одним из основных механизмов токсичности тяжелых металлов выступает окислительный стресс (Wu et al., 2016; Jan, et al., 2016). Он возникает в результате дисбаланса между производством реактивных форм кислорода, свободных радикалов и других редокс-активных промежуточных соединений и способностью биологических систем противодействовать свободнорадикальным повреждениям. Окислительный стресс наблюдается при нейродегенеративных патологиях, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, боковой амиотрофический склероз и др. (Halliwell, 2006).

Снизить интенсивность окислительного стресса в клетках нервной системы позволяет введение в организм эндогенных антиоксидантов и синтетических антиоксидантных соединений. Особое внимание при изучении нейродегенеративных заболеваний и когнитивных нарушений, обусловленных токсическим действием тяжелых металлов, уделяется антиоксидантным функциям аскорбиновой кислоты (Harrison, May, 2009).

Аскорбиновая кислота является ключевым антиоксидантом центральной нервной системы. Было высказано предположение, что аскорбиновая кислота обладает нейропротективным действием (May, 2012; Wilson, 1997), а также участвует в первой линии антиоксидантной защиты, защищая липидные мембраны и белки от окислительного повреждения (Barrita, Sánchez, 2013)

Показаны антиоксидантные функции аскорбиновой кислоты в механизмах защиты от ионов свинца, вызывающих окислительный стресс (Tariq, 2007). Однако экспериментальные и клинические данные последних исследований свидетельствуют о неоднозначной роли кислоты в окислительно-восстановительном гомеостазе (Brody et al., 2002; Hediger, 2002; Barrita, Sánchez, 2013).

Цель исследования – оценка способности аскорбиновой кислоты противодействовать негативному влиянию ацетата свинца на выработку условной реакции активного избегания, служащую экспериментальной моделью обучения и памяти.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на самцах беспородных крыс массой  $200 \pm 20$  г. Протокол эксперимента с животными соответствовал Правилам, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (European Communities Council Directives, 86/609/ЕЕС, Страсбург, 1986) и директиве 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. Животные содержались в условиях сертифицированного вивария (температура помещения –  $23 \pm 2$  °С) при световом режиме – 10 ч свет / 14 ч темнота, с неограниченным доступом к воде и пище.

Опыты проводили в камере, разделенной перегородкой с отверстием на две равные половины. У животных в течение пяти опытных сеансов через день вырабатывали условную реакцию активного избегания (УРАИ), служащую экспериментальной моделью обучения и памяти (Буреш и др., 1990). Включали звуковой условный раздражитель и через 10 с подавали ток (0,5–0,7 мА) в проводку пола той половины камеры, в которой находились крысы. В ответ на тот или иной раздражитель крысы переходили на безопасную половину камеры, при этом раздражители выключались. Через 30 с раздражители предъявлялись повторно. За опыт давалось 25 предъявлений раздражителей.

Для определения влияния ацетата свинца и аскорбиновой кислоты на выработку УРАИ в зависимости от времени их введения в организм животного было проведено три серии экспериментов (таблица). В каждой серии животные были разделены на контрольную и три экспериментальных группы. Контрольным животным вводили внутривенно 0,9%-ный раствор NaCl; опытным – раствор аскорбиновой кислоты (250 мг/кг) или раствор ацетата свинца (15 мг/кг).

Таблица. Схема эксперимента

Серия	Группа животных	Режим внутрибрюшинного введения вещества
I (n = 30)	1-я группа (n = 7) – контроль	За 0,5 ч до опыта
	2-я группа (n = 8) – инъекция раствора ацетата	За 5 часов до опыта
	3-я группа (n = 8) – инъекция раствора аскорбиновой кислоты	за 2,5 ч до опыта
	4-я группа (n = 7) – последовательные инъекции растворов ацетата свинца и аскорбиновой кислоты	За 5 часов до опыта инъекция раствора ацетата свинца и за 2,5 ч до опыта инъекция раствора аскорбиновой кислоты
II (n = 29)	1-я группа (n = 7) – контроль	За 0,5 ч до опыта
	2-я группа (n = 7) – инъекция раствора ацетата свинца	За 24 ч до опыта
	3-я группа (n = 7) – инъекция раствора аскорбиновой кислоты	За 2,5 ч до опыта
	4-я группа (n = 8) – последовательные инъекции ацетата свинца и аскорбиновой кислоты	За 24 ч до опыта инъекция раствора ацетата свинца и за 2,5 ч до опыта инъекция раствора аскорбиновой кислоты
III (n = 30)	1-я группа (n = 6) – контроль	За 0,5 ч до опыта
	2-я группа (n = 8) – инъекция раствора ацетата свинца	За 24 ч до опыта
	3-я группа (n = 8) – инъекция раствора аскорбиновой кислоты	За 2,5 ч до опыта
	4-я группа (n = 8) – инъекции растворов ацетата свинца и аскорбиновой кислоты	За 0,5 ч до опыта

Результаты приведены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка. Для попарного сравнения величин реакций избегания у групп животных использовали критерий Вилкоксона, применяя программное обеспечение Minitab версии 14.0; статистически значимые различия принимали при  $p < 0,05$ .

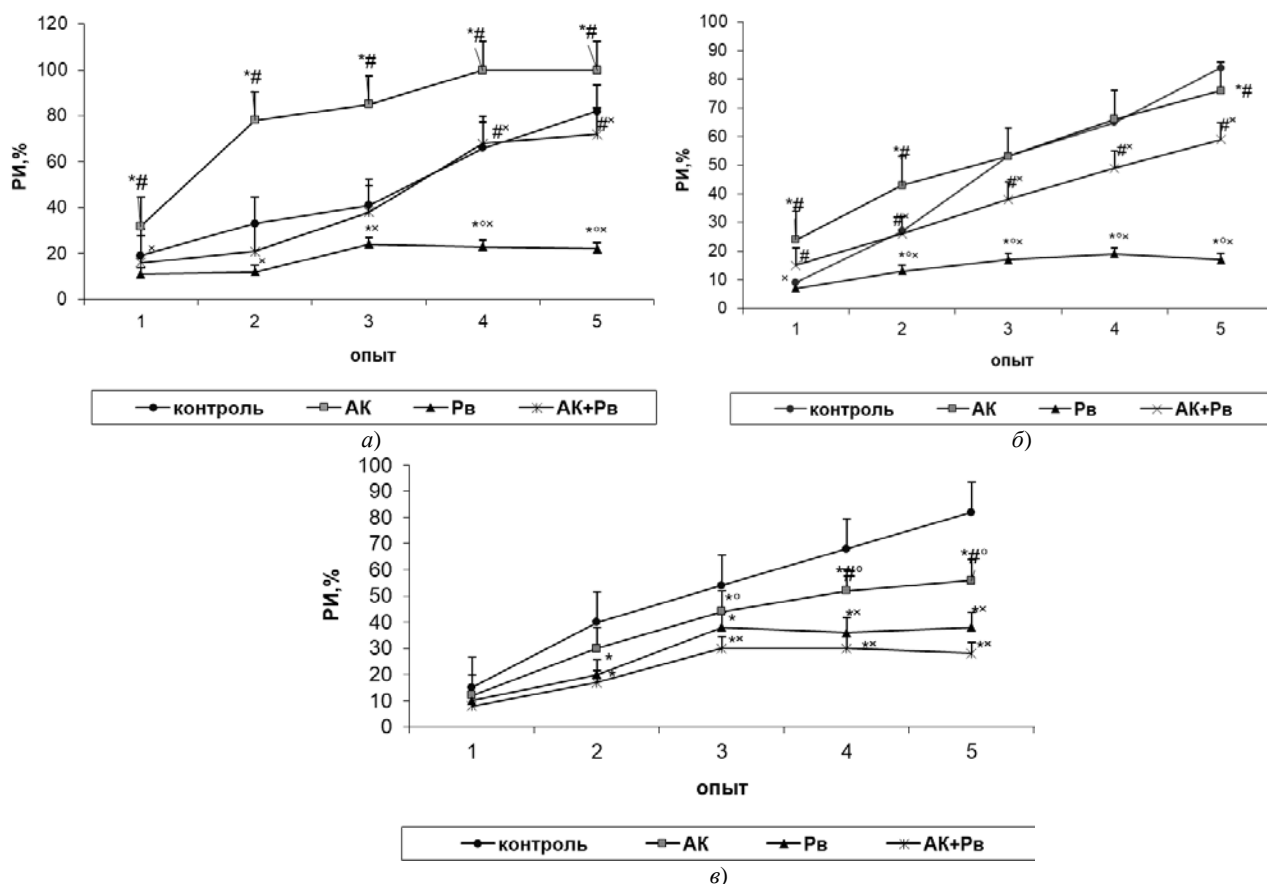
### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно полученным в опыте результатам, введение ацетата свинца за 5 ч до опыта привело к торможению формирования реакции избегания у крыс (рис. 1,а). Максимальное значение избегания ни в одном из опытных дней не превышало 20% от числа всех предъявлений. Следовательно, животные в каждом опыте подвергались электрошолевому воздействию более чем в 80% случаев, что свидетельствует о глубоком угнетении обучения. При воздействии на крыс аскорбиновой кислоты обучение избеганию происходит быстрее. С учётом положительного влияния аскорбиновой кислоты на обучение и память, благодаря её антиоксидантной активности (Parle, Dhingra, 2003; Shahidi et al., 2008; Kumar et al., 2009), можно предположить, что в основе полученного в исследовании положительного эффек-

та также лежит антиоксидантное свойство аскорбиновой кислоты.

Следует обратить внимание на то, что реакции избегания вырабатываются быстрее, чем в контроле только в первые два дня. Это, по видимому, связано с тем, что в этот период животные больше всего подвергаются воздействию тока, вызывающему электрошолевой стресс. Так, например, у контрольных крыс в 1-й день реакций избегания было меньше десяти процентов, вследствие чего они подверглись минимум девяти ударам тока из каждых десяти предъявлений раздражителей.

Ранее было показано, что выработка УРАИ вызывает, помимо электрошолевого, и окислительный стресс, при этом эндогенный антиоксидант карнозин подавляет его и ускоряет обучение (Бережной и др., 2016). Можно предположить, что указанное в нашей работе усиление стресса составляет точку приложения для антиоксидантов, что обеспечивает большую возможность для проявления активности аскорбиновой кислоты. В последующие дни число реакций избегания увеличивается, а число ударов тока уменьшается, как это следует из рис. 1,а, и эффект аскорбиновой кислоты нивелируется.



**Рис. 1.** Выработка реакций избегания (РИ) на фоне действия аскорбиновой кислоты (АК) и ацетата свинца (Pb):

*a* – I серия экспериментов; *б* – II серия экспериментов; *в* – III серия экспериментов;

(\* –  $p \leq 0,05$  относительно контроля; # – относительно опытной группы, которой вводился раствор ацетата свинца (Pb);

° – относительно опытной группы, которой вводились растворы АК и ацетат свинца (Pb);

x – относительно опытной группы, которой вводился раствор АК)

Выработка реакций избегания при введении аскорбиновой кислоты спустя 2,5 ч после ацетата свинца (серия 1, 3-я группа) на всём протяжении опыта происходила статистически значимо быстрее, чем при введении металла без кислоты. Важным механизмом нейротоксического угнетения функций головного мозга выступает окислительный стресс (Wu et al., 2016; Jan, et al., 2016). Показано также, что ТМ (свинец и кадмий) вызывают окислительный стресс в тканях мозга, сопровождаемый ухудшением обучения и памяти. Антиоксиданты витамин Е и кверцетин уменьшают и то, и другое нарушения (Halder et al., 2016; Sun et al., 2017).

В опытах, проведённых ранее, также было показано, что кадмий вызывал окислительный стресс в тканях мозга, печени, плазме крови крыс и снижал жизнеспособности клеток культуры нейробластомы человека SH-SY5Y. Антиокси-

дант карнозин противодействовал этим процессам (Kulikova et al., 2016). Было установлено также, что окислительный стресс сопровождал выработку условной реакции активного избегания, а карнозин уменьшал его уровень и одновременно оказывал положительное влияние на обучение и память (Стволинский и др., 2014; Бережной и др., 2016).

Это даёт основание предположить, что указанное выше противодействие аскорбиновой кислоты угнетению УРАИ ацетатом свинца может быть объяснено её антиоксидантной активностью.

Тем не менее следует отметить, что ацетат свинца уменьшил активность аскорбиновой кислоты, поскольку выработка реакции избегания при сочетанном воздействии этих агентов проходила медленнее, чем при воздействии аскорбиновой кислоты без свинца (рис. 1,а).

Изменение временных параметров введения свинца и аскорбиновой кислоты в серии II существенно не повлияло на результаты (рис. 1,б). Воздействие ацетата свинца вызвало такое же угнетение УРАИ, а аскорбиновая кислота стимулировала обучение, как и в серии I, что указывает на хорошую воспроизводимость результатов опытов. При сочетанном введении аскорбиновой кислоты и ацетата свинца эффект аскорбиновой кислоты был ослаблен, но, тем не менее, она, как и в серии I, противодействовала отрицательному влиянию ацетата свинца, увеличивая уровень УРАИ относительно такового при его введении без антиоксиданта. Полученные результаты подтверждают положительное влияние аскорбиновой кислоты на обучение и память у крыс как в норме, так и при воздействии ацетата свинца.

Противоположный результат получен в опытах серии III, в которой инъекция аскорбиновой кислоты и введение ацетата свинца происходило в одно и то же время за 0,5 ч до опыта. Согласно полученным данным (рис. 1,в) это привело к тому, что аскорбиновая кислота не оказала положительного влияния на выработку УРАИ. Более того, уровень УРАИ при одновременном введении аскорбиновой кислоты и ацетата свинца не отличался от такового при введении только ацетата свинца.

Такая неоднозначность данных, полученных в трёх сериях экспериментов может объясняться сложным механизмом каскада окислительно-восстановительных процессов с участием аскорбиновой кислоты в присутствии ионов металлов, который остаётся до конца невыясненным (Patra, Swarup, 2001). Показано, что окисление аскорбиновой кислоты происходит с образованием промежуточных продуктов – ион-радикалов. По мнению авторов, именно эта способность аскорбиновой кислоты легко отдавать электроны соответствующим акцепторам и образовывать ион-радикалы лежит в основе её участия в окислительно-восстановительных процессах (Patra, Swarup, 2001; Barrita, Sánchez, 2013).

## ВЫВОДЫ

Установлено неоднозначное влияние аскорбиновой кислоты в дозе в дозе 250 мг/кг на формирование условной реакции активного избегания у крыс. Внутривентрикулярное введение аскорбиновой кислоты в дозе 250 мг/кг оказало положительное влияние на формирование условной

реакции избегания, служащей экспериментальной моделью обучения и памяти, у крыс как в норме, так и при воздействии ацетата свинца в дозе 15 мг/кг, если она вводилась до него или после. Это означает, что кислота уменьшает последствия как болевого стресса, вызываемого током, так и окислительного стресса, вызываемого тяжёлым металлом. Аскорбиновая кислота при одновременной инъекции с тяжёлым металлом за 0,5 ч до опыта не препятствовала его нейротоксическому угнетению обучения, и уровень избегания при одновременной инъекции не отличался от такового при введении одного ацетата свинца. Во всех случаях ацетат свинца уменьшал активность аскорбиновой кислоты так, что при сочетанном введении агентов выработка избегания была хуже, чем при введении аскорбиновой кислоты без тяжёлого металла.

Установленная непредсказуемость совместного действия аскорбиновой кислоты с ацетатом свинца подтверждает высказанный нами ранее вывод относительно опасности, которую представляет совместное воздействие лекарственных средств с тяжёлыми металлами в промышленно развитых регионах, особенно в связи с тем, что оно может увеличить нейротоксичность последних.

## ЛИТЕРАТУРА

Бережной Д.С., Федорова Т.Н., Стволинский С.Л., Иноземцев А.Н. Карнозин модулирует окислительный гомеостаз мозга и уровень нейромедиаторов в условиях обучения с положительным и отрицательным подкреплением. *Нейрохимия*. 2016. Т. 33. № 4. С. 293–300

Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. Методика и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа. 1991. 400 с.

Иноземцев А.Н., Карпухина О.В., Бокиева С.Б., Гумаргалиева К.З. Тяжелые металлы: совместное воздействие с другими химическими агентами на центральную нервную систему. *Микроэлементы в медицине*. 2015. Т. 16. № 3. С. 20–28.

Иноземцев А.Н., Карпухина О.В., Бокиева С.Б., Гумаргалиева К.З. Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Парадоксальное влияние сочетанного воздействия смакса и молибдена на обучение и память крыс. *Вестник Московского университета. Серия 16: Биология*. 2017. Т. 72, № 3. С. 174–178.

Куликова О.И., Федорова Т.Н., Стволинский С.Л., Орлова В.С., Иноземцев А.Н. Карнозин предотвращает развитие окислительного стресса в условиях токсического действия кадмия. *Вестник Московского университета. Серия 16: Биология*. 2016. № 4. С. 66–71.

Онищенко Г.Г., Новиков С.М., Рахманин Ю.А., Авалиани С.Л., Буштуева К.А. Основы оценки риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. М., 2002. 408 с.

- Скальный А.В., Астраханцева Е.Ю., Скальная М.Г., Мазалецкая А.Л., Тиньков А.А. и др. Социально-экономические эффекты влияния токсичных металлов на психоинтеллектуальное здоровье детей и подростков. *Микроэлементы в медицине*. 2017. Т. 18. № 3. С. 3–12
- Скальный А.В., Быков А.Т., Лимин Б.В. Диагностика, профилактика и лечение отравлений свинцом. М.: Всероссийский центр медицины катастроф «Защита», 2002. 52 с.
- Стволинский С.Л., Федорова Т.Н., Бережной Д.С., Логвиненко А.А., Музычук О.А., Иноземцев А.Н. Карнозин ( $\beta$ -аланил-L-гистидин) повышает эффективность обучения в условиях окислительного стресса, связанного с выработкой условного рефлекса с отрицательным подкреплением. *Нейрохимия*. 2014. Т. 31. № 4. С. 328–334.
- Aschner M., Costa L. Environmental Factors in Neurodevelopmental and Neurodegenerative Disorders. Eds. M. Aschner, L. Costa. Elsevier, 2015. 425 p.
- Barrita J.L.S., Sánchez M. Antioxidant Role of Ascorbic Acid and Its Protective Effects on Chronic Diseases. In «Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases – A Role for Antioxidants». Ed. by José A. Morales-González. 2013.
- Brody S., Preut R., Schommer K., Schurmeyer T.H. A randomized controlled trial of high dose ascorbic acid for reduction of blood pressure, cortisol, and subjective responses to psychological stress. *Psychopharmacology (Berl)*. 2002; 159:319–324.
- Chen K., Suh J., Carr A.C., Marrow J.D., Zeind J., Frei B. Vitamin C suppresses lipid damage in vivo even in the presence of iron over-load. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2000; 279:E1406–1212
- Farina M., Aschner M., Rocha J.B.T. Oxidative stress in methylmercury induced neurotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharm.* 2011; 256:405–417.
- Inozemtsev A.N., Bokieva S.B., Karpukhina O.V., Gumargalieva K.Z. Effects of combined treatment with heavy metals and piracetam on learning and memory in rats. *Dokl. Biol. Sci.* 2008; 442:301–304.
- Halder S., Kar R., Galav V., Mehta A.K., Bhattacharya S.K., Mediratta P.K., Banerjee B.D. Cadmium exposure during lactation causes learning and memory-impairment in F1 generation mice: amelioration by quercetin. *Drug Chem Toxicol.* 2016; 39(3):272–278.
- Halliwel B. Oxidative stress and neurodegeneration: Where are we now? *J. Neurochem.* 2006; 97:1634–1658.
- Harrison F.E., May J.M. Vitamin C function in the brain: Vital role of the ascorbate transporter SVCT2. *Free Radic. Biol. Med.* 2009; 46:719–730.
- Hediger M.A. New view at C. *Nat. Med.* 2002. 8:445–446.
- Jan A.T., Azam M., Siddiqui K., Ali A., Choi I., Haq Q.M. Heavy Metals and Human Health: Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16(12):29592–29630.
- Kumar R.S., Narayanan S.N., Nayak S. Ascorbic acid protects against restraint stress-induced memory deficits in Wistar rats. *Clinics*. 2009. 64(12):1211–1217.
- May J.M. Vitamin C transport and its role in the central nervous system. *Subcell. Biochem.* 2012; 56:85–103.
- Patra R.C., Swarup D. Antioxidant effects of  $\alpha$  tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead-induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Dwivedi Toxicology*. 2001; 162(2):81–88.
- Parle M., Dhingra D. Ascorbic acid: a promising memory-enhancer in mice. *J. Pharm. Sci.* 2003; 93(2):129–135.
- Sanders T., Liu Y., Buchner V., Tchounwou P.B. Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure: a review. *Rev. Environ. Health.* 2009; 24:15–45.
- 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):109–113.
- Shih R.A., Glass T.A., Bandeen-Roche K. et al. Environmental lead exposure and cognitive function in community-dwelling older adults. *Neurology*. 2006; 67:1556–1562.
- Shih R.A., Hu H., Weisskopf M.G., Schwartz B.S. Cumulative lead dose and cognitive function in adults: a review of studies that measured both blood lead and bone lead. *Environ Health Perspect.* 2007; 115(3):483–492.
- Stewart W., Schwartz B., Simon D. ApoE Genotype, Past Adult Lead Exposure, and Neurobehavioral Function. *Environ Health Perspect.* 2002, 110 p.
- Sun B., Zhang X., Yin Y., Sun H., Ge H., Li W. Effects of sulforaphane and vitamin E on cognitive disorder and oxidative damage in lead-exposed mice hippocampus at lactation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2017; 44:88–92.
- Tariq S.A. Role of ascorbic acid in scavenging free radicals and lead toxicity from biosystems. *Mol Biotechnol.* 2007; 37:62–65
- Wilson J.X. Antioxidant defense of the brain: A role for astrocytes. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1997; 75:1149–1163.
- Weisskopf M.G., Proctor S.P., Wright R.O. et al. Cumulative lead exposure and cognitive performance among elderly men. *Epidemiology*. 2007; 18:59–66.
- Wu X., Cobbina S.J., Mao G., Xu H., Zhang Z., Yang L. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2016; 23(9):8244–8259.

## THE STUDY OF PROTECTIVE ROLE OF ASCORBIC ACID WITH REGARD TO LEARNING AND MEMORY FROM THE TOXIC EFFECTS OF LEAD

**O.V. Karpukhina<sup>1,3</sup>, S.B. Bokieva<sup>2</sup>, K.Z. Gumargalieva<sup>3</sup>, A.N. Inozemtsev<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Department of Higher Nervous Activity, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1, str. 12, 119234, Moscow, Russia

<sup>2</sup> North Ossetian State University, Vatutina str. 46, 362025, Vladikavkaz, Russia

<sup>3</sup> N.N. Semenov Institute of Chemical Physics RAS; Kosygina str. 4, 119991, Moscow, Russia

**ABSTRACT.** We studied the effect of intraperitoneal injection of ascorbic acid at a dose of 250 mg/kg and lead acetate at a dose of 15 mg/kg on two-way avoidance conditioning in rats, which served as an experimental model of training and memory. The experiment was carried out during 5 sessions with intervals of one day. To determine the effect of the heavy metal salt and the acid on the avoidance conditioning, depending on the time of their injection, 3 series of experiments were performed: I. Injection of lead acetate for 5 hours and ascorbic acid for 2 hours before each experiment; II. Lead acetate injection for 24 h, ascorbic acid injections and lead acetate for 2.5 h before so each experiment; III. Lead acetate injection 24 h before the experiment, lead acetate and ascorbic acid injection 0.5 h before the experiment. It was found that ascorbic acid enhanced avoidance learning both in control rats and under the influence of lead acetate, if it was administered before or after the heavy metal injection. This means that the acid reduces the effects of both pain stress caused by electric current and oxidative stress caused by the heavy metal. Ascorbic acid with simultaneous injection with the heavy metal for 0.5 hours before the experiment did not reduce the neurotoxic inhibition of training, and the level of avoidance with simultaneous injection did not differ from that with the administration of lead acetate alone. In both cases, the lead salt reduced the activity of ascorbic acid, so that with the combined administration of agents, avoidance training was worse than with the administration of the antioxidant without the heavy metal.

**KEYWORDS:** learning, active avoidance, shuttle box, lead, antioxidants, ascorbic acid/

### REFERENCES

- Berezhnoi D.S., Fedorova T.N., Stvolinski S.L., Inozemtsev A.N. Carnosine modulates oxidative homeostasis and levels of neurotransmitters in the brain in models of learning with positive and negative reinforcement. *Neurochemical Journal*. 2016; 10(4):273–279. [In Russ].
- Buresh I., Bureshova O., Houston J.P. *Methods and basic experiments for the study of brain and behavior*. M.: High School. 1991. 400 p. [In Russ].
- Inozemtsev A.N., Karpukhina O.V., Bokieva S.B., Gumargalieva K.Z. Heavy metals: the combined impact with other chemical agents on the central nervous system. *Trace Elements in Medicine*. 2015; 16(3):20–28 [In Russ].
- Inozemtsev A.N., Bokieva S.B., Karpukhina O.V., Gumargalieva K.Z., Kamenskii A.A., Myasoedov N.F. Paradoxical influence of combined effect of semax and ammonium molybdate on learning and memory in rats. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. 2017. 72(3):151–154.
- Kulikova O.I., Fedorova T.N., Stvolinsky S.L., Orlova V.S., Inozemtsev A.N. Carnosine prevents the development of oxidative stress under the conditions of toxic action of cadmium. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. 2016; 71(4):240–244.
- Onishchenko G.G., Novikov S.M., Rakhmanin Yu.A., Avaliani S.L., Bushtueva K.A. Basis for assessing the risk to public health at the presence of chemicals contaminating the environment. Moscow, 2002 [in Russ].
- Skalny A.V., Astrakhantseva E.Yu., Skalnaya M.G., Mazaletskaia A.L., Tinkov A.A. Socioeconomic effects of toxic metal exposure on psycho-intellectual health of children and adolescents. *Trace Elements in Medicine*. 2017; 18(3):3–12 [In Russ].
- Skalny A.V., Bykov A.T., Limin B.V. *Diagnosis, prevention and treatment of lead poisoning*. M: Russian Center for Disaster Medicine «Protection», 2002. 52 p.
- Stvolinsky S.L., Fedorova T.N., Berezhnoy D.S. et al. Carnosine (beta-alanyl-l-histidine) increases the efficacy of learning under conditions of oxidative stress related to the development of conditioned response with negative reinforcement. *Neurochemical Journal*. 2014; 8(4):295–300.
- Aschner M., Costa L. *Environmental Factors in Neurodevelopmental and Neurodegenerative Disorders*. Eds. M. Aschner, L. Costa. Elsevier, 2015. 425 p.
- Barrita J.L.S., Sánchez M. Antioxidant Role of Ascorbic Acid and His Protective Effects on Chronic Diseases. In «Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases – A Role for Antioxidants». Ed. by José A. Morales-González. 2013.
- Brody S., Preut R., Schommer K. Schurmeyer T.H.A randomized controlled trial of high dose ascorbic acid for reduction of blood pressure, cortisol, and subjective responses to psychological stress. *Psychopharmacology (Berl)*. 2002; 159:319–324.

- Chen K., Suh J., Carr A.C., Marrow J.D., Zeind J., Frei B. Vitamin C suppresses lipid damage in vivo even in the presence of iron over-load. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2000; 279:E1406–1212
- Farina M., Aschner M., Rocha J.B.T. Oxidative stress in methylmercury induced neurotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharm.* 2011; 256:405–417.
- Inozemtsev A.N., Bokieva S.B., Karpukhina O.V., Gumargalieva K.Z. Effects of combined treatment with heavy metals and piracetam on learning and memory in rats. *Dokl. Biol. Sci.* 2008; 442:301–304.
- Halder S., Kar R., Galav V., Mehta A.K., Bhattacharya S.K., Mediratta P.K., Banerjee B.D. Cadmium exposure during lactation causes learning and memory-impairment in F1 generation mice: amelioration by quercetin. *Drug Chem Toxicol.* 2016; 39(3):272–278.
- Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: Where are we now? *J. Neurochem.* 2006; 97:1634–1658.
- Harrison F.E., May J.M. Vitamin C function in the brain: Vital role of the ascorbate transporter SVCT2. *Free Radic. Biol. Med.* 2009; 46:719–730.
- Hediger M.A. New view at C. *Nat. Med.* 2002. 8:445–446.
- Jan A.T, Azam M., Siddiqui K., Ali A, Choi I., Haq Q.M. Heavy Metals and Human Health: Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16(12):29592–29630.
- Kumar R.S., Narayanan S.N., Nayak S. Ascorbic acid protects against restraint stress-induced memory deficits in Wistar rats. *Clinics.* 2009. 64(12):1211–1217.
- May J.M. Vitamin C transport and its role in the central nervous system. *Subcell. Biochem.* 2012; 56:85–103.
- Patra R.C., Swarup D. Antioxidant effects of  $\alpha$  tocopherol, ascorbic acid and l-methionine on lead-induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Dwivedi Toxicology.* 2001; 162(2):81–88.
- Parle M., Dhingra D. Ascorbic acid: a promising memory-enhancer in mice. *J. Pharm. Sci.* 2003; 93(2):129–135.
- Sanders T., Liu Y., Buchner V., Tchounwou P.B. Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure: a review. *Rev. Environ. Health.* 2009; 24:15–45.
- 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):109–113.
- Shih R.A, Glass T.A, Bandeen-Roche K. et al. Environmental lead exposure and cognitive function in community-dwelling older adults. *Neurology.* 2006; 67:1556–1562.
- Shih R.A, Hu H, Weisskopf M.G, Schwartz B.S. Cumulative lead dose and cognitive function in adults: a review of studies that measured both blood lead and bone lead. *Environ Health Perspect.* 2007; 115(3):483–492.
- Stewart W, Schwartz B, Simon D. ApoEGenotype, Past Adult Lead Exposure, and Neurobehavioral Function. *Environ Health Perspect.* 2002, 110 p.
- Sun B., Zhang X., Yin Y., Sun H., Ge H., Li W. Effects of sulforaphane and vitamin E on cognitive disorder and oxidative damage in lead-exposed mice hippocampus at lactation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2017; 44:88–92.
- Tariq S.A. Role of ascorbic acid in scavenging free radicals and lead toxicity from biosystems. *Mol Biotechnol.* 2007; 37:62–65
- Wilson J.X. Antioxidant defense of the brain: A role for astrocytes. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1997; 75:1149–1163.
- Weisskopf M.G., Proctor S.P., Wright R.O. et al. Cumulative lead exposure and cognitive performance among elderly men. *Epidemiology.* 2007; 18:59–66.
- Wu X., Cobbina S.J., Mao G., Xu H., Zhang Z., Yang L. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2016; 23(9):8244–8259.