Original Article

The effect of probiotics mixture on learning and spatial memory in kindled rats

Bagheri S, Heidari A, Alinaghipour A, Banitaba SM, Salami M*

Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received: 2018/04/25 | Accepted: 2018/06/24

Abstract:

Background: Repeated seizure attacks lead to extensive neuronal damage and cognitive impairment such as memory loss and learning. Probiotics are shown to have some protective actions against neurological disorders. The present study aimed to examine the effect of probiotics on learning, memory and the nitric oxide level in kindled rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 40 male rats were randomly divided into five groups: control, kindled with penthylenetetrazole (PTZ), kindled and valproic acid (VPA), kindled after probiotic treatment (probiotic + PTZ), and kindled before probiotic treatment (PTZ + probiotic). The animals were treated by a mixture of probiotics for 4 weeks. Chemical kindling was induced by intraperitoneal injection of PTZ (35 mg/kg) every 48 hours for 24 days. The learning and spatial memory were evaluated by the Morris water maze. The serum nitric oxide level was assessed by the Miranda method.

Results: No significant difference was observed between the control and VPA groups in terms of memory, learning and serum levels of nitric oxide. Learning (P<0.001) and spatial memory (P<0.05) phenomena were improved in the probiotic supplemented groups compared to the PTZ group. Also, serum nitric oxide levels were reduced in the probiotic supplemented groups (P<0.05).

Conclusion: Probiotic supplementation reduces the level of nitric oxide and improves the learning and memory process.

Keywords: Probiotics, Spatial memory, Chemical kindling, Rat

* **Corresponding Author.**
Email: salami-m@kaums.ac.ir
Tel: 0098 913 361 2920
Fax: 0098 31 55621157

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2018; Vol. 22, No 3, Pages 230-238

Please cite this article as: Bagheri S, Heidari A, Alinaghipour A, Banitaba SM, Salami M. The effect of probiotics mixture on learning and spatial memory in kindled rats. ***Feyz*** 2018; 22(3): 230-8.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]

بررسی اثر مخلوط پروبیوتیک‌ها بر حافظه و یادگیری فضایی در مدل صرع موش صحرایی

سمانه باقری [۱]، اژدر حیدری [۲]، اعظم علی‌نقی پور [۱]، سید مجتبی بنی‌طباء بیدگلی [۳]، محمود سلامی [۴*]

خلاصه:

سابقه و هدف: صرع منجر به آسیب نورونی و بروز اختلالات شناختی مانند زوال حافظه و یادگیری می‌شود. مشاهده شده است که پرو-بیوتیک‌ها سطح سرمی نیتریک اکساید را کاهش داده و حافظه و یادگیری فضایی را بهبود می‌دهند. مطالعه حاضر به‌منظور بررسی اثر پرو-بیوتیک‌ها بر یادگیری، حافظه و سطح نیتریک اکساید در موش‌های صحرایی صرعی طراحی شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۴۰ رأس موش صحرایی نر به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند: گروه Control، گروه PTZ (کیندل شده با پنتیلن تترازول (PTZ)، گروه VPA (والپروئیک اسید) (کیندل شده با PTZ و درمان با VPA)، گروه Probiotic+PTZ (پیش‌درمان پروبیوتیک و کیندل شده با PTZ) و گروه PTZ+Probiotic (کیندل شده با PTZ و درمان با پروبیوتیک). حیوانات مخلوط پروبیوتیک را به‌مدت ۴ هفته دریافت کردند. کیندلینگ شیمیایی با تزریق داخل صفاقی PTZ ۳۵ mg/kg هر ۴۸ ساعت یک‌بار به‌مدت ۲۴ روز القا شد. یادگیری و حافظه فضایی توسط ماز آبی موریس ارزیابی گردید و سطح نیتریک اکساید سرم با تکنیک Miranda سنجیده شد.

نتایج: تفاوت معنی‌داری از نظر حافظه، یادگیری و سطح سرمی نیتریک اکساید بین گروه کنترل و PTZ+VPA وجود نداشت. مخلوط پروبیوتیک‌ها در حیوانات صرعی در مقایسه با گروه PTZ روند یادگیری ($P<۰/۰۰۱$) و حافظه فضایی ($P<۰/۰۵$) را بهبود بخشیده و سبب کاهش میزان نیتریک اکساید سرم شد ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: مکمل‌های پروبیوتیک احتمالا با کاهش سطح نیتریک اکساید سرم سبب بهبود روند یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی صرعی می‌شود.

واژگان کلیدی: پروبیوتیک، حافظه فضایی، صرع شیمیایی، موش صحرایی

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۳، مرداد و شهریور ۹۷، صفحات ۲۳۸-۲۳۰

مقدمه

از دیدگاه نوروبیولوژی صرع نوعی بی‌نظمی مزمن عملکرد عصبی است که در نتیجه تخلیه هم‌زمان و بیش از حد سلول‌های مغزی ایجاد می‌شود. تخمین زده می‌شود که حدود ۵۰ میلیون نفر در دنیا به این بیماری مبتلا هستند [۱]. شمار زیادی از مبتلایان به صرع از کاهش یادگیری، ضعف در حافظه و اختلالات رفتاری رنج می‌برند. تحریک بیش از حد نورون‌ها در صرع ناشی از افزایش فعالیت سیستم نوروترانسمیتری تحریکی و یا کاهش فعالیت سیستم مهاری می‌باشد [۲]. تحریک در سیستم عصبی مرکزی عمدتا به‌واسطه نوروترانسمیتر گلوتامات و مهار توسط نوروترانسمیتر گابا (γ-Amino butyric acid; GABA) ایجاد می‌شود [۳].

از روش‌های متداول ایجاد صرع در مدل حیوانی کیندلینگ شیمیایی به‌وسیله پنتیلن تترازول است که احتمال می‌رود از طریق کاهش فعالیت سیستم گاباارژیک و فعال شدن گیرنده‌های آیونوتروپیکی گلوتامات سبب ایجاد تشنج می‌شود [۴]. وجود اختلال یادگیری و حافظه و نقایص شناختی نیز در مدل‌های تجربی صرع در حیوانات آزمایشگاهی مورد تایید قرار گرفته است [۵]. فاکتورهای استرس اکسیداتیو از جمله عواملی هستند که آسیب‌پذیری نورون‌ها را افزایش می‌دهند [۵]. نیتریک اکساید سبب از بین رفتن نورون‌ها شده و نیز تکثیر گلیاها به‌طور واکنشی را موجب می‌گردد که می‌تواند در پاتوژنز صرع دخیل باشد [۶]. همچنین، نیتریک اکساید در تشکیل حافظه فضایی دخیل است و اثرات سیستم کولینرژیک بر حافظه فضایی را واسطه‌گری می‌کند [۷،۵]. ازآنجایی‌که استرس اکسیداتیو در مبتلایان به صرع می‌تواند منجر به اختلالات ناشی از تشنج گردد، لذا به‌نظر می‌رسد استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها بتواند از آسیب و مرگ نورونی جلوگیری کند [۸]. پروبیوتیک‌ها از طریق کاهش آسیب‌های التهابی، افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GP) استرس اکسیداتیو را مهار می‌کنند [۹]. از طرف دیگر مشاهده شده است که پروبیوتیک‌ها اثرات مفیدی در بهبود حافظه و یادگیری دارند [۱۰]. لاکتوباسیلوس‌ها تبدیل نیترات (NO3-) به نیتریت (NO2-) و در

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

[۲] دانشیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

[۳] مربی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

[۴] استاد، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

* **نشانی نویسنده مسئول:**
کاشان، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی

تلفن: ۰۹۱۳۳۶۱۲۹۲۰ **دورنویس:** ۰۳۱ ۵۵۶۲۱۱۵۷

پست الکترونیک: salami-m@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۵ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۷/۴/۳

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]

نهایت سطح NO را تحت شرایط بی‌هوازی کاهش می‌دهند [۱۱]. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اگر به میـزان مناسـب مـصرف شوند، نتایج مفیدی برای سلامت میزبان در پی خواهند داشـت [۱۲]. برخی شواهد حکایت از اثر مثبت پروبیوتیک-ها روی بیماری‌های عصبی ماننـد آلزایمر [۱۳]، مولتیپل اسکلروز [۱۴] و بیماری‌های التهابی دارد [۱۵]. به‌طور معمول جهت اثربخشی بهتر ترکیبی از گونه‌های مختلف باکتریایی می‌تواند مصرف شود. انتخاب شایع مخلوطی از لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌هاست [۱۶]. مطالعه حاضر تلاشی در جهت بررسی اثر مخلوط پروبیوتیکی بر روند یادگیری و حافظه در مدل صرع شیمیایی و سنجش نیتریک اکساید سرم به‌عنوان عاملی دخیل در استرس اکسیداتیو است.

مواد و روش‌ها

حیوانات:

این مطالعه تجربی روی ۴۰ رأس موش صحرایی نر با وزن ۱۸۰-۲۰۰ گرم انجام شد. حیوانات مورد مطالعه به‌طور تصادفی به ۵ گروه زیر تقسیم شدند: گروه کنترل (Control) تغذیه شده با حامل پروبیوتیک؛ گروه صرعی (PTZ) تغذیه شده با حامل پروبیوتیک هم‌زمان با کیندلینگ شیمیایی؛ گروه کنترل مثبت (VPA) دریافت کننده اسید والپروییک هم‌زمان با کیندلینگ شیمیایی؛ گروه پیش-درمان پروبیوتیک (Probiotic+PTZ) تغذیه شده با پروبیوتیک قبل از شروع کیندلینگ شیمیایی؛ و گروه درمانی پروبیوتیک (PTZ+ Probiotic) تغذیه شده با پروبیوتیک هم‌زمان با کیندلینگ شیمیایی. حیوانات مورد مطالعه در شرایط استاندارد حیوانخانه با سیکل روشنایی ۱۲ ساعته، رطوبت ۵۰ تا ۶۰ درصد و دمای ۲۰ تا ۲۲°C نگهداری شدند و از نظر دسترسی به آب و مواد غذایی آزاد بودند. لازم به‌ذکر است که آزمایش‌های انجام شده در این تحقیق به تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی کاشان رسید.

تجویز پروبیوتیک:

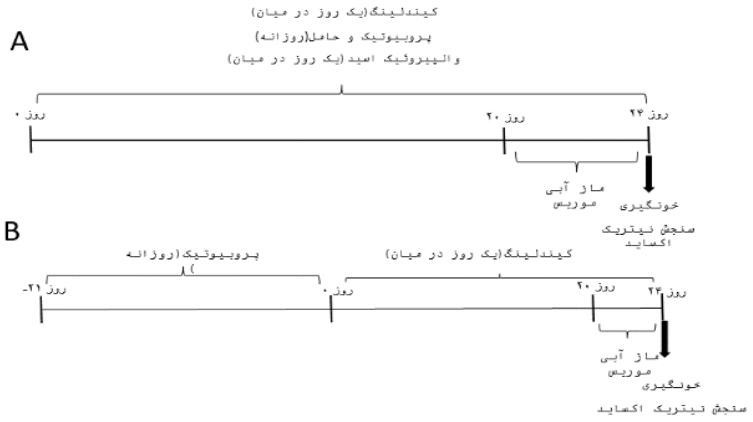
حیوانات مورد مطالعه مکمل پروبیوتیکی را به شکل قطره پدی‌لاکت (شرکت زیست‌تخمیر) دریافت کردند. این قطره به-صورت سوسپانسیون حاوی سه باکتری *Lactobacillus reuteri, Lactobacillus rhamnosus, Bifidobacterium infantis* به نسبت مساوی و با تعداد 10^9 CFU می‌باشد. حامل پروبیوتیک نیز در برگیرنده همه ترکیبات پدی‌لاکت به‌جز پروبیوتیک بود. پرو-بیوتیک و حامل آن روزانه درحجم یک میلی‌لیتر با سرنگ مخصوص گاواژ به‌مدت ۳ هفته به موش‌ها خورانده شد. والپروییک اسید در روزهای کیندلینگ، نیم ساعت قبل از کیندلینگ به حیوان تزریق شد (شکل شماره ۱).

روش ایجاد صرع در حیوانات:

در این مطالعه از داروی پنتیلن تترازول (سیگما، آمریکا) با دوز ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش برای القای تشنج استفاده شد. محلول پنتیلن تترازول به‌صورت داخل صفاقی، ۱۲ نوبت، هر ۴۸ ساعت یک‌بار تزریق شد [۱۷].

بررسی حافظه و یادگیری فضایی:

یادگیری و تثبیت حافظه فضایی توسط ماز آبی موریس بررسی شد. این ماز یک تانک فلزی به قطر ۱۵۰ و عمق ۷۰ سانتی-متر است که تا ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری آن از آب پر می‌شود. ماز به-طور فرضی به ۴ ربع مساوی شمالی، جنوبی، شرقی و غربی تقسیم شده و یک سکوی نجات (سکوی هدف) به قطر ۱۰ سانتی‌متر در وسط یکی از ربع‌های فرضی آن قرار می‌گیرد. این سکو ۵/۱ سانتی-متر زیر سطح آب قرار می‌گیرد و قابل دیدن نیست.



شکل شماره ۱- پروتکل آزمایش

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]

حرارت آب در حدود ۲۷-۲۵ درجه سانتیگراد تنظیم می‌شود. ماز در اتاقی قرار می‌گیرد که در آن علائم فضایی مختلفی وجود دارد که در طول آزمایش ثابت بوده و برای حیوان در ماز قابل دیدن است. در واقع حیوان تنها با استفاده از الگوها و علائم فضائی محل سکو در ماز را به‌خاطر می‌سپارد. در بالای ماز یک دوربین دیجیتال با قابلیت دید در تاریکی نصب شده و کلیه رفتارهای حیوان پس از فیلمبرداری در حافظه کامپیوتر ذخیره می‌شود تا برای انجام آنالیزهای بعدی مورد استفاده قرار گیرد. در پایان هر مرحله از آزمایش فیلم‌های ذخیره شده توسط نرم‌افزار اختصاصی "ردیاب ۲" آنالیز شده و پس از رسم نقشه شماتیک مسیر حرکت حیوان در ماز، مدت زمان سپری شده و مسافت طی شده در ماز توسط حیوان به‌منظور یافتن سکوی نجات تجزیه و تحلیل می‌گردد.

مراحل انجام آزمایش:

مرحله یادگیری یا آموزش:

طی این مرحله حیوان از یکی از سمت‌های چهارگانه (شمال، جنوب، مشرق و مغرب) ماز درحالی‌که صورت آن به طرف دیواره ماز بود، در آب رها می‌شد. با توجه به اندازه ماز و نوع حیوان (موش صحرایی) حداکثر زمان آزمایش در هر مرحله ۶۰ ثانیه درنظرگرفته شد. درصورتی‌که حیوان به‌طور اتفاقی سکوی نجات مخفی در زیر آب را پیدا می‌کرد و روی آن قرار می‌گرفت، به حیوان اجازه داده می‌شد تا به‌مدت ۱۵ ثانیه روی سکو بماند و با جستجوی اطراف و دیدن علائم موجود در آزمایشگاه موقعیت خود را شناسایی کند. این موضوع به حیوان کمک می‌کرد تا در جلسات بعدی آزمایش با استفاده از علائم بینایی در اتاق محل آزمایش، جایگاه سکو را پیدا نماید. لازم به ذکر است که هم علائم فضایی موجود در محل آزمایش و هم موقعیت سکو در یکی از ۴ قسمت ماز در طول آزمایشات ثابت بود. درصورتی‌که در مدت تعیین شده موش قادر به پیدا کردن سکوی هدف نمی‌شد، توسط آزمایش کننده به آرامی به سوی سکو هدایت شده تا سکو را یافته و برای ۱۵ ثانیه روی آن قرار گیرد. پس از گذشت این زمان، حیوان از سکو برداشته شده و بعد از خشک شدن با یک حوله به قفس خود برگردانده می‌شد. پس از ۱۰ دقیقه آزمایش مجددا تکرار می‌گردید؛ با این تفاوت که محل رها شدن موش در ماز نسبت به مرحله قبل متفاوت بود. هر موش روزانه ۴ جلسه آموزش با فاصله ۱۰ دقیقه ای را تجربه می‌کرد. در مجموع این مرحله از آزمایش به‌مدت ۴ روز طول کشید و طی آن ۱۶ جلسه آزمایش روی حیوانات انجام گرفت. در این مرحله مدت زمان و مسافت سپری شده برای یافتن سکوی پنهان معیار میزان یادگیری قرار گرفت.

مرحله بازخوانی یا پروب (Probe trial):

مرحله بازخوانی پس از تکمیل مرحله یادگیری انجام شد. این مرحله از آزمایش برای هر موش یک‌بار انجام گرفت. در این مرحله (با توجه به اینکه حیوان محل سکوی نجات را می‌داند) سکو از ماز خارج شده و ۳۰ ثانیه فرصت شنا کردن به حیوان داده می‌شد. در نهایت زمان سپری شده و مسافت طی شده در ربع هدف (که در مرحله قبل واجد سکو بود) به‌منظور بررسی حافظه فضایی مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۸].

سنجش میزان نیتریک اکسید:

در پایان آزمایشات از بطن چپ حیوانات خون‌گیری شد و سرم آن در سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ به‌مدت ۵ دقیقه به‌دست آمد. برای اندازه‌گیری غلظت نیتریت و نیترات، در یک میکروپلیت الایزا ابتدا ۱۰۰ میکرو لیتر سرم پروتئین زدایی شده و سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول کلرید وانادیوم (III) (۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اضافه شد تا نیترات‌ها به نیتریت تبدیل شوند. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر مخلوط (۱ به ۱) سولفانامید و NEDD افزوده شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. بعد از انجام واکنش و تشکیل رنگ، جذب نوری حاصل از تشکیل ماده رنگی در ۵۴۰ نانومتر توسط دستگاه خوانش‌گر الایزا قرائت شده و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت نمونه‌ها محاسبه شد. غلظت‌های منحنی استاندارد ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرومول در لیتر بود [۱۹].

آنالیز آماری:

نتایج حاصل از این تحقیق با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویراست ۲۰ و با آزمون واریانس یک‌طرفه آنالیز شده و مقایسه گروه‌های آزمایشی با استفاده از آزمون تعقیبی LSD انجام شد. نتایج به‌دست آمده به‌صورت میانگین±انحراف استاندارد گزارش شده است. سطح معنی‌داری $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج

یادگیری و حافظه فضایی حیوانات در ماز آبی موریس بررسی شد. در ابتدا مرحله یادگیری به‌مدت ۴ روز و هر روز ۴ جلسه اجرا گردید. سپس در روز پنجم حافظه حیوانات در مرحله آزمون مورد بررسی قرار گرفت.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]

مرحله یادگیری یا آموزش:

مسافت طی شده جهت یافتن سکوی پنهان:

آنالیز آماری داده‌های حاصل از آزمون ماز آبی موریس تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های مورد مطالعه از نظر مسافت پیموده شده برای یافتن سکوی پنهان نشان داد ($P<۰/۰۵$؛ $F_{۴,۷۷۹}=۶/۷۱۳$). همان‌طور که در نمودار شماره ۱ مشاهده می‌شود تفاوت مسافت پیموده شده برای یافتن سکو در روزهای مختلف در گروه PTZ با گروه کنترل معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). گروه VPA نیز در مسافت طی شده در ماز با گروه PTZ اختلاف معنی‌داری نداشت ($P<۰/۰۵$). مصرف پروبیوتیک سبب کاهش معنی‌دار مسافت طی شده برای یافتن سکوی پنهان در گروه Probiotic+PTZ نسبت به گروه PTZ گردید ($P<۰/۰۱$). اختلاف بین گروه‌های PTZ+Probiotic و VPA نیز معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). تفاوت معنی‌داری مابین گروه Probiotic+PTZ و گروه VPA وجود داشت ($P<۰/۰۱$). بین دو گروه Probiotic PTZ+ و PTZ+Probiotic اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$).

مدت زمان طی شده جهت یافتن سکوی پنهان:

آنالیز داده‌های حاصل از زمان سپری شده برای یافتن سکوی پنهان تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های مختلف نشان داد ($P<۰/۰۱$؛ $F_{۴/۷۷۸}=۲/۹۲$). همان‌طور که در نمودار شماره ۲ مشاهده می‌شود تفاوت زمان سپری شده برای یافتن سکو در روزهای مختلف در گروه PTZ با گروه کنترل معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). همچنین، گروه‌های VPA و PTZ هم تفاوتی نداشتند ($P<۰/۰۵$). مصرف مصرف مکمل پروبیوتیک سبب کاهش زمان سپری شده برای یافتن سکوی پنهان در گروه PTZ+Probiotic نسبت به گروه PTZ گردید ($P<۰/۰۵$). به‌علاوه، بین دو گروه Probiotic+PTZ و کنترل هم اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P<۰/۰۱$).

مرحله آزمون:

مسافت طی شده در ربع هدف:

آنالیز داده‌ها نشان داد که مسافت طی شده در ربع هدف بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌دار دارد ($P<۰/۰۵$؛ $F_{۴/۷۷۹}=۳/۰۶$). همان‌طور که در نمودار شماره ۳ مشاهده می‌شود تفاوت مسافت طی شده در ربع هدف در گروه PTZ در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). اختلاف معنی‌داری بین گروه PTZ و VPA نیز مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). اختلاف بین گروه‌های Probiotic+PTZ و PTZ+Probiotic با گروه PTZ نیز معنی‌دار نبود. بااین‌حال، مصرف پروبیوتیک سبب افزایش مسافت طی شده در ربع هدف در گروه PTZ+Probiotic نسبت به گروه VPA شد ($P<۰/۰۱$). بین دو گروه Probiotic+PTZ و +Probiotic PTZ نیز اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P<۰/۰۱$).

مدت زمان طی شده در ربع هدف:

همانگونه که در نمودار شماره ۴ مشاهده می‌شود، آنالیز داده‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مختلف از نظر زمان سپری شده در ربع هدف می‌باشد ($P<۰/۰۵$؛ $F_{۴/۴۰}=۲/۷۵$). تفاوت زمان سپری شده در ربع هدف در گروه PTZ و گروه کنترل معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). همچنین، اختلاف معنی‌داری بین گروه PTZ و VPA مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). اختلاف بین گروه‌های Probiotic PTZ+ و PTZ+Probiotic با گروه PTZ نیز معنی‌دار نبود، اما مصرف پروبیوتیک سبب کاهش معنی‌دار مسافت طی شده در ربع هدف در گروه PTZ+Probiotic نسبت به گروه VPA شد ($P<۰/۰۱$).

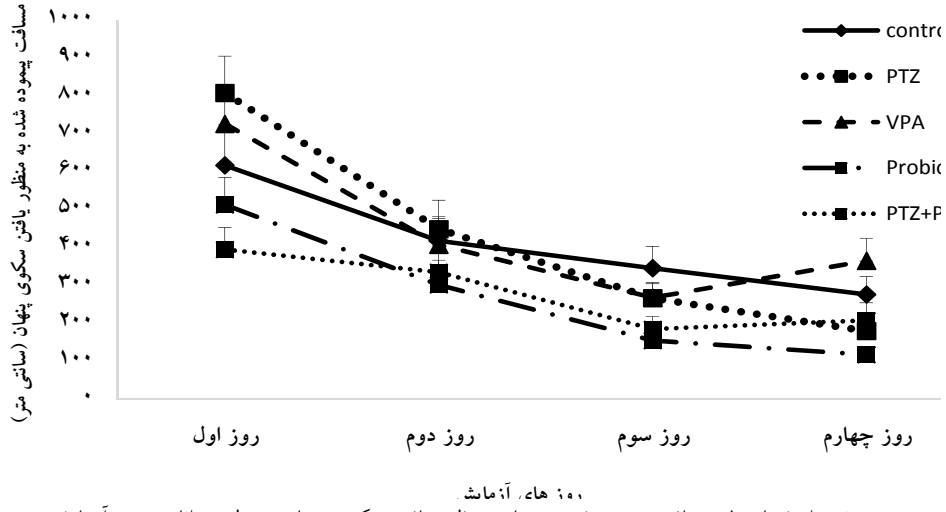
اثر پروبیوتیک بر میزان نیتریک اکساید سرم:

اگرچه اختلاف میانگین نیتریک اکساید سرم در گروه‌های PTZ و VPA با گروه کنترل معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$)، اما مصرف قطره پدی‌لاکت سبب کاهش معنی‌دار سطح نیتریک اکساید سرم گروه PTZ+Probiotic نسبت به گروه PTZ شد ($P<۰/۰۵$). بین دو گروه Probiotic+PTZ و PTZ+Probiotic نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (نمودار شماره ۵).

بحث

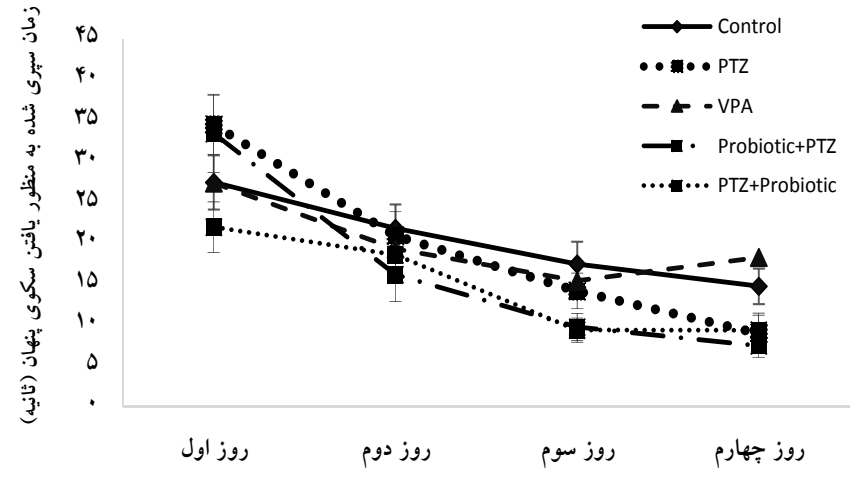
نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از مخلوط پروبیوتیک‌ها باعث بهبود روند یادگیری فضایی موش‌های صحرایی صرعی می‌شود؛ بدین‌معنی که موش‌های صرعی دریافت کننده پروبیوتیک نسبت به موش‌های صرعی که پروبیوتیک دریافت نکردند، به‌منظور یافتن سکوی پنهان مسافت و زمان کمتری را در ماز سپری کردند. به‌علاوه، پروبیوتیک در روند تثبیت حافظه موش‌های صحرایی موثر بود و موش‌های دریافت کننده پروبیوتیک عملکرد بهتری نسبت به سایر گروه‌ها از خود نشان دادند. تاکنون مطالعه‌ای درباره اثر پروبیوتیک بر روند یادگیری و حافظه فضایی در صرع صورت نگرفته است.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]



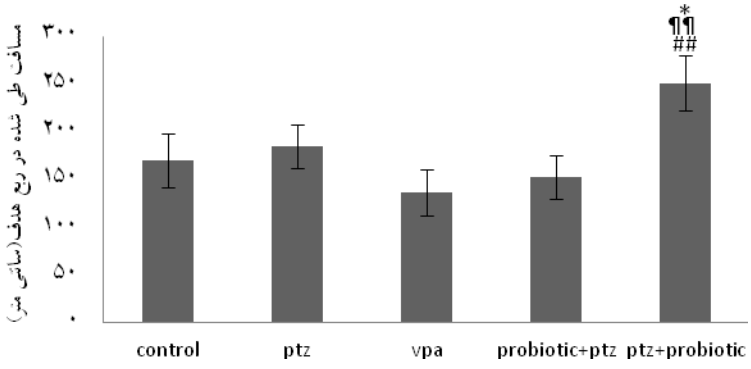
نمودار شماره ۱- مسافت پیموده شده در ماز به‌منظور یافتن سکوی پنهان توسط حیوانات مورد آزمایش

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف استاندارد میانگین نمایش داده شده‌اند. اختلاف معنی‌دار بین گروه Control با گروه‌های Probiotic+PTZ و PTZ+Probiotic (P<۰/۰۱)، بین گروه PTZ و گروه‌های Probiotic+PTZ و PTZ+Probiotic (P<۰/۰۱) و نیز بین گروه VPA با گروه‌های Probiotic+PTZ و PTZ+Probiotic (P<۰/۰۱) وجود داشت.



نمودار شماره ۲- زمان لازم جهت یافتن سکوی پنهان در آزمون ماز آبی موریس

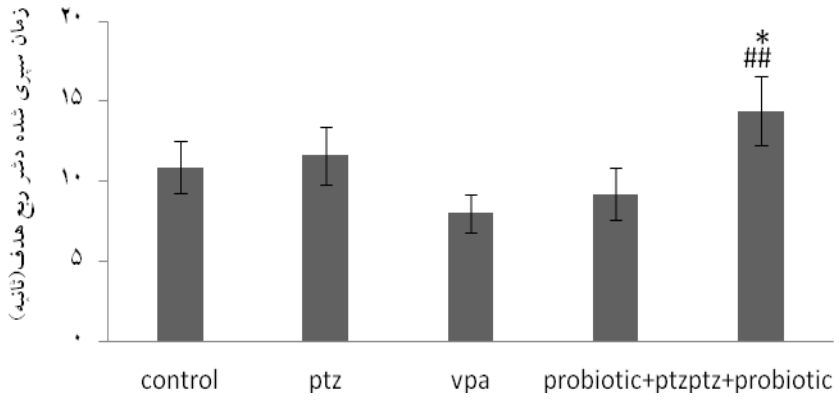
داده ها به‌صورت میانگین± انحراف میانگین استاندارد حاصل از مجموع جلسات انجام شده طی یک روز نمایش داده شده است. اختلاف معنی‌دار بین گروه Control با گروه Probiotic+PTZ (P<۰/۰۱) و میز بین گروه‌های PTZ و PTZ+Probiotic وجود داشت (P<۰/۰۱).



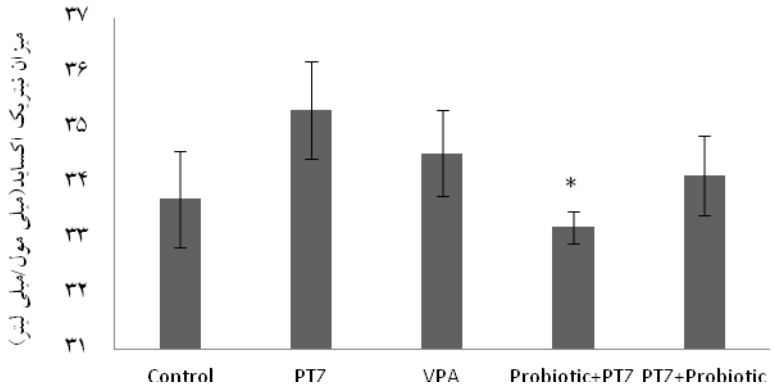
نمودارشماره ۳- مسافت پیموده شده در ربع هدف توسط موش‌های صحرایی

داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف استاندارد میانگین نمایش داده شده‌اند. (P<۰/۰۵)* مقایسه با گروه Control. (P<۰/۰۱) ## مقایسه با گروه VPA. (P<۰/۰۱) ¶¶ مقایسه با گروه Probiotic+PTZ

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]



نمودار شماره ۴- مدت زمانی که موش‌های گروه‌های آزمایش در مرحله بازخوانی اطلاعات آموخته شده در ربع هدف سپری کردند.
داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف میانگین استاندارد نمایش داده شده است. ($P<۰/۰۵$)* مقایسه با گروه Probiotic+ PTZ. ($P<۰/۰۱$)## مقایسه با گروه VPA



نمودار شماره ۵- سطح نیتریک اکساید سرم
داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف میانگین استاندارد نمایش داده شده است. ($P<۰/۰۵$)* مقایسه با گروه PTZ.

در مطالعات انسانی شواهدی مبنی بر نقش داشتن فلور میکروبی روده بر عملکرد سیستم عصبی مرکزی وجود دارد؛ مبنی بر اینکه مصرف خوراکی پروبیوتیک‌ها و تعادل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش اثرات مفیدی بر سیستم عصبی مرکزی دارد [۲۰]. Gareau و همکاران نشان دادند حافظه کاری و غیرفضایی حیوانات فاقد میکروارگانیسم (Germ free) نیز در تست T Maze کاهش می‌یابد [۲۱]. علاوه براین، مطالعات حیوانی ثابت کرده‌اند که عفونت و التهاب حاد و مزمن دستگاه گوارش باعث تغییر بیوشیمی و رفتار سیستم عصبی مرکزی می‌شود [۲۲]. در مطالعه اکبری و همکاران مصرف ۱۲ هفته‌ای پروبیوتیک سبب بهبودی حافظه و همچنین کاهش استرس اکسیداتیو بیماران آلزایمری شد [۱۳]. باکتری‌های روده سبب تولید اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر مانند بوتیرات، استات و پروپیونات از رژیم حاوی کربوهیدرات می‌شوند [۲۳]. اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر با سلول-های عصبی جهت تحریک سیستم عصبی سمپاتیک تعامل دارد [۲۴]. بوتیرات به‌عنوان مهارکننده آنزیم هیستون داستیلاز در فرآیند یادگیری و حافظه دخالت دارد [۲۵]. مشخص شده است که Bifidobacterium تجمع اسیدهای چرب شامل آراشیدونیک و دوکوزاهگزانوییک اسید را در مغز افزایش می‌دهد که نقش مهمی در فرآیندهای تکامل مغزی دارند و تجمع آنها باعث بهبود فرآیند یادگیری و حافظه می‌شود [۲۶]. داوری و همکاران نیز نشان دادند تجویز مکمل پروبیوتیک‌ها نقص فعالیت پایه سیناپسی و القای تقویت درازمدت در ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی دیابتیک را ترمیم کرده و به مقادیر نرمال نزدیک می‌کند [۲۷]. داده‌های این مطالعه نشان داد مصرف پروبیوتیک در موش-های صرعی سبب کاهش سطح نیتریک اکساید سرم می‌شود. طبق مطالعات انجام شده فعال شدن گیرنده‌های اینوتروپیکی گلوتامات در مدل‌های صرعی موجب افزایش کلسیم داخل سلولی و دپلاریزاسیون پتانسیل غشای میتوکندری نورون‌ها در بسیاری از مناطق مغز به‌خصوص هیپوکمپ می‌شود. این اثرات موجب

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]

اختلال در مصرف اکسیژن، کاهش تولید ATP، تولید بیش از حد ROS (Reactive Oxygen Species)، نیتریک اکساید و پراکسی نیتریت و درنتیجه آسیب دیدن اجزای سازنده سلول ازجمله لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA می‌شود [۲۸]. نیتریک اکساید به‌عنوان یک نوروترانسمیتر از نورون آزاد می‌شود و ازآنجاکه در تنظیم متابولیسم پایه گلوتامات و گابا ایفای نقش می‌کند، در نتیجه می‌تواند نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی صرع داشته باشد. آسیب نورونی هیپوکامپ مربوط به افزایش آزاد سازی گلوتامات ناشی از نیتریک اکسید در نورون‌ها گزارش شده است [۶]. تاکنون مطالعات فراوانی دال بر اثر تعدیل‌گر نیتریک اکساید بر بروز تشنج انجام شده است؛ بااین‌حال، در همه موارد اثر قطعی برای نیتریک اکسید به‌دست نیامده است؛ چرا که در غالب مطالعات نیتریک اکساید اثر دوگانه‌ای بر بروز تشنج داشته است [۲۹]. Jones و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش داده‌اند که نیتریک اکساید در حافظه تشخیص فضایی دخیل است و اثرات سیستم کولینرژیک بر حافظه فضایی را واسطه‌گری می‌کند. برخی از سویه‌های لاکتوباسیلوس ممکن است تبدیل نیترات به نیتریت و در نهایت سطح نیتریک اکسید را تحت شرایط بی‌هوازی را کاهش دهند [۱۱] و از این طریق آسیب نورونی هیپوکامپ را کاهش داده و سبب بهبود حافظه شوند. در مطالعه داوری و همکاران مصرف پروبیوتیک سبب کاهش عوامل استرس اکسیداتیو و بهبودی یادگیری و حافظه موش صحرایی دیابتی شده است [۳۰]. بنابراین، بر اساس شواهد موجود مصرف پروبیوتیک‌ها ممکن است باعث تاخیر در بروز اختلال یادگیری حافظه و یا بهبود آن از طریق کاهش میزان نیتریک اکساید در بیماری صرع شود. نتایج متناقضی در ارتباط با تاثیر VPA بر حافظه و یادگیری گزارش شده است. تزریق درون‌صفاقی VPA با کاهش تکثیر سلولی در ناحیه زیردندانه‌دار هیپوکامپ موجب اختلال حافظه فضایی موش می‌شود. اختلال شناختی توسط VPA ممکن است ناشی از کاهش نوروژنز در داخل هیپوکامپ باشد [۳۱]. نشان داده شده است که تزریق مزمن VPA از طریق مهار کننده هیستون داستیلاز حافظه بلندمدت در موش‌های مدل آلزایمر را بهبود می‌بخشد [۳۲]. در مطالعه Kuriyama و همکاران نیز تجویز تک‌دوز VPA به میزان ۴۰۰ mg/kg تاثیری بر میزان یادگیری نداشته است [۳۳].

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که پیش‌درمان و نیز درمان با پروبیوتیک می‌تواند موجب بهبود یادگیری و حافظه فضایی در موش‌های صحرائی صرعی گردد. بر این اساس، می‌توان به اثرات این باکتری‌های مفید روی سایر پدیده‌های نورولوژیک حاصل از صرع امیدوار بود؛ بااین‌حال، شناخت دقیق مکانیسم‌های مداخله کننده در اثرات مثبت ذکر شده روی پدیده‌های شناختی ضروری به‌نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی شماره ۹۶۵۲ با کد اخلاقی IR.KAUMS.MEDNT.REC.1396.3 مربوط به پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم سمانه باقری می‌باشد. نویسندگان از حمایت‌های مالی و تجهیزاتی معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان تشکر می‌کنند. پروبیوتیک مصرفی در این تحقیق فرآورده شرکت زیست تخمیر بوده است که در فرم تجاری پدی‌لاکت عرضه می‌گردد. لازم است تا از زحمات همه افرادی که به‌هرنحو در انجام این پژوهش مساعدت نمودند، تشکر و قدردانی گردد.

References:

[1] Engel J. Seizures and epilepsy: Oxford Univ Pres; 2013.
[2] Jung AR, Park CH, Seo Choi Y, Yoo JH, Lee HW. Functional Brain Connectivity and Memory Impairment in Temporal Lobe Epilepsy (S22. 004). ***Neurology*** 2016; 86(16 Supplement): S22. 004.
[3] Hui Yin Y, Ahmad N, Makmor-Bakry M. Pathogenesis of epilepsy: challenges in animal models. ***Iran J Basic Med Sci*** 2013; 16(11): 1119.
[4] Naseer MI, Shupeng L, Kim MO. Maternal epileptic seizure induced by pentylenetetrazol: apoptotic neurodegeneration and decreased GABA B1 receptor expression in prenatal rat brain. ***Mol Brain*** 2009; 2(1): 20.
[5] Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. ***Science*** 1993; 262(5134): 689-95.
[6] Reid CA, Jackson GD, Berkovic SF, Petrou S. New therapeutic opportunities in epilepsy: a genetic perspective. ***Pharmacol Therapeut*** 2010; 128(2): 274-80.
[7] Pitsikas N, Boultadakis A. Pre-training administration of anesthetic ketamine differentially affects rats' spatial and non-spatial recognition memory. ***Neuropharmacology*** 2009; 57(1): 1-7.
[8] Ebadi M, Govitrapong P, Sharma S, Muralikrishnan D, Shavali S, Pellett L, et al. Ubiquinone (coenzyme q10) and mitochondria in oxidative stress of Parkinson's disease. ***Biol Signals Recept*** 2001; 10(3-4): 224-53.
[9] D'souza A, Fordjour L, Ahmad A, Cai C, Kumar D, Valencia G, et al. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on messenger RNA expression of caveolin-1, NOS, and genes regulating oxidative stress

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]

in the terminal ileum of formula-fed neonatal rats. ***Pediatr Res*** 2010; 67(5): 526.
[10] Xiao J, Li S, Sui Y, Wu Q, Li X, Xie B, et al. Lactobacillus casei-01 facilitates the ameliorative effects of proanthocyanidins extracted from lotus seedpod on learning and memory impairment in scopolamine-induced amnesia mice. ***Plos One*** 2014; 9(11): e112773.
[11] Jones ML, Prakash S. Nitric Oxide Device and Method for Wound Healing, Treatment of Dermatological Disorders and Microbial Infections. ***Google Patents*** 2011.
[12] Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. ***Nat Rev Gastro Hepat*** 2014; 11(8): 506.
[13] Akbari E, Asemi Z, Daneshvar Kakhaki R, Bahmani F, Kouchaki E, Tamtaji OR, et al. Effect of probiotic supplementation on cognitive function and metabolic status in Alzheimer's disease: a randomized, double-blind and controlled trial. ***Front Aging Neurosci*** 2016; 8: 256.
[14] Kouchaki E, Tamtaji OR, Salami M, Bahmani F, Kakhaki RD, Akbari E, et al. Clinical and metabolic response to probiotic supplementation in patients with multiple sclerosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. ***Clin Nutr*** 2017; 36(5): 1245-9.
[15] Rogers NJ, Mousa SA. The shortcomings of clinical trials assessing the efficacy of probiotics in irritable bowel syndrome. ***J Altern Complement Med*** 2012; 18(2): 112-9.
[16] Pena JA, Versalovic J. Lactobacillus rhamnosus GG decreases TNF-alpha production in lipopolysaccharide-activated murine macrophages by a contact-independent mechanism. ***Cell Microbiol*** 2003; 5(4): 277-85.
[17] Palizvan M, Ghaznavi-Rad E. Naloxane enhanced inhibitory effect of verapamil on seizure induced by pentylenetetrazol in male rats. ***Res Pharm Sci*** 2014; 9(4): 295.
[18] Yazdani M, Edalatmanesh M, Rafiei S. Ameliorative effect of lithium chloride on working and spatial memory deficit in a PTZ-induced seizure model. ***Feyz*** 2017; 21(2): 110-7. [in Persian]
[19] Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. ***Clin Chem*** 1990; 36(8): 1440-3.
[**20]** Messaoudi M, Lalonde R, Violle N, Javelot H, Desor D, Nejdi A, et al. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (Lactobacillus helveticus R0052 and Bifidobacterium longum R0175) in rats and human subjects. ***Brit J Nutr*** 2011; 105(5): 755-64.
[21] Gareau MG, Wine E, Rodrigues DM, Cho JH, Whary MT, Philpott DJ, et al. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. ***Gut*** 2011; 60(3): 307-17.
[22] Bercik P, Verdú EF, Foster JA, Lu J, Scharringa A, Kean I, et al. Role of gut-brain axis in persistent abnormal feeding behavior in mice following eradication of Helicobacter pylori infection. ***Am J Physiol-Reg I*** 2009; 296(3): R587-R94.
[23] Roy CC, Kien CL, Bouthillier L, Levy E. Short-chain fatty acids: ready for prime time? ***Nutr Clin Pract*** 2006; 21(4): 351-66.
[24] Kimura I, Inoue D, Maeda T, Hara T, Ichimura A, Miyauchi S, et al. Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 2011; 108(19): 8030-5.
[25] Stefanko DP, Barrett RM, Ly AR, Reolon GK, Wood MA. Modulation of long-term memory for object recognition via HDAC inhibition. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 2009; 106(23): 9447-52.
[26] Wall R, Marques TM, O'Sullivan O, Ross RP, Shanahan F, Quigley EM, et al. Contrasting effects of Bifidobacterium breve NCIMB 702258 and Bifidobacterium breve DPC 6330 on the composition of murine brain fatty acids and gut microbiota. ***Am J Clin Nutr*** 2012; 95(5): 1278-87.
[27] Davari S, Talaei SA, Alaei H, Salami M. Probiotics treatment improves diabetes-induced impairment of synaptic activity and cognitive function: behavioral and electrophysiological proofs for microbiome–gut–brain axis. ***Neuroscience*** 2013; 240: 287-96.
[28] Shin EJ, Ko KH, Kim WK, Chae JS, Yen TPH, Kim HJ, et al. Role of glutathione peroxidase in the ontogeny of hippocampal oxidative stress and kainate seizure sensitivity in the genetically epilepsy-prone rats. ***Neurochem Int*** 2008; 52(6): 1134-47.
[29] Takemiya T, Suzuki K, Sugiura H, Yasuda S, Yamagata K, Kawakami Y, et al. Inducible brain COX-2 facilitates the recurrence of hippocampal seizures in mouse rapid kindling. ***Prostag Oth Lipid M*** 2003; 71(3-4): 205-16.
[30] Davari S, Talaei SA, Soltani M, Alaei H, Salami M. The effect of co-administration of lactobacillus probiotics and bifidobacterium on spatial memory and learning in diabetic rats. ***Tehran Univ Med J Publ*** 2012; 70(9): 531-9.
[31] Umka J, Mustafa S, ElBeltagy M, Thorpe A, Latif L, Bennett G, et al. Valproic acid reduces spatial working memory and cell proliferation in the hippocampus. ***Neuroscience*** 2010; 166(1): 15-22.
[32] Kilgore M, Miller CA, Fass DM, Hennig KM, Haggarty SJ, Sweatt JD, et al. Inhibitors of class 1 histone deacetylases reverse contextual memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. ***Neuropsychopharmacology*** 2010; 35(4): 870.
[33] Kuriyama K, Honma M, Koyama S, Kim Y. D-cycloserine facilitates procedural learning but not declarative learning in healthy humans: a randomized controlled trial of the effect of D-cycloserine and valproic acid on overnight properties in the performance of non-emotional memory tasks. ***Neurobiol Learn Mem*** 2011; 95(4): 505-9.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]