Original Article

Effect of probiotic supplementation on behavioral and electrophysiological aspects of memory and learning in ethanol exposed animals

Hadidi-Zavareh AH[1], Haji-Khani R[1], Pakpour B[2], Salami M[3*]

1- Department of Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.
2- Department of Biology, Faculty of Sciences Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.
3- Institute for Basic Sciences, Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R. Iran.

Received: 2019/06/26 | Accepted: 2019/12/29

Abstract:

Background: Long lasting exposure to ethanol causes reversible impairment of learning and memory. Gut microbiota imbalance is linked to the neurological disorders. Recent studies indicate that probiotic consumption can relief learning and memory deficit. This study aimed to investigate the effect of probiotic supplementation with intragastric gavage on behavioral and electrophysiological aspects of learning and memory in ethanol exposed animals.
Materials and Methods: In this study, 4 groups including control (CON) and probiotic administered (C+P) groups, the group receiving chronic ethanol (CE) and CE animals receiving probiotic (E+P) were entered the study. The passive avoidance shuttle box test and in vivo electrophysiological experiment were carried out to assess hippocampal baseline filed excitatory postsynaptic potentials (fEPSPs) and long term potentiation (LTP).
Results: Results showed that ethanol impaired memory in the CE rats. It also diminished the slope size of fEPSPs and prevented LTP induction in these animals. The probiotic supplementation improved the behavioral performance in the C+P rats but it did not influence synaptic transmission in this group.
Conclusion: Behavioral but not electrophysiological aspect of cognition cane be sensitive to the probiotic treatment in the ethanol exposed animals.

Keywords: Ethanol, Memory, LTP, Probiotics, Shuttle box

***Corresponding Author:**
Email: salami-m@kaums.ac.ir
Tel: 0098 913 361 2920
Fax: 0098 315 562 1157

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2020; Vol. 24, No 1, Pages 1-9

Please cite this article as: Hadidi-Zavareh AH, Haji-Khani R, Pakpour B, Salami M. Effect of probiotic supplementation on behavioral and electrophysiological aspects of learning and memory in ethanol exposed animals. ***Feyz*** 2020; 24(1): 1-9.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

بررسی اثر مکمل پروبیوتیک بر جنبه‌های رفتاری و الکتروفیزیولوژیکی حافظه و یادگیری در حیوانات دریافت‌کننده اتانول

امیرحسین حدیدی زواره [۱]، رامین حاجی‌خانی [۱]، بهاره پاکپور [۲]، محمود سلامی [۳*]

خلاصه:

سابقه و هدف: مصرف طولانی‌مدت اتانول، سبب اختلال برگشت‌پذیر در یادگیری و حافظه می‌شود. آسیب به میکروارگانیسم‌های روده با اختلالات سیستم ایمنی، دستگاه گوارش و سیستم عصبی مرتبط است. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که مصرف پروبیوتیک‌ها می‌تواند اختلالات حافظه را بهبود دهد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر مکمل پروبیوتیک به‌صورت گاواژ بر اختلال یادگیری و حافظه در حیوانات دریافت‌کننده اتانول بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ۴ گروه شامل کنترل (CON)، گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک (C+P)، گروه دریافت‌کننده اتانول به‌صورت محلول در آب خوراکی (CE) و گروه دریافت‌کننده اتانول همراه با پروبیوتیک (E+P) مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه، از تست شاتل‌باکس به‌منظور بررسی حافظه با ارزیابی رفتار احترازی - اجتنابی مهاری و ثبت الکتروفیزیولوژیک جهت بررسی میزان پاسخ پایه و نیز پاسخ بعد از تحریک تتانیک هیپوکامپ استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد که اتانول باعث اختلال در حافظه حیوانات CE می‌شود. همچنین الکل، دامنه پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی میدانی را کاهش داده، مانع از القای LTP شد. مکمل پروبیوتیک به‌طور قابل‌توجهی سبب بهبود حافظه در حیوانات گروه E+P شد، درحالی‌که روی انتقال سیناپسی در حیوانات تحت‌درمان با الکل، تأثیری نداشت.

نتیجه‌گیری: جنبه رفتاری حافظه بر خلاف جنبه الکتروفیزیولوژیکی آن می‌تواند بر تیمار پروبیوتیک در حیوانات دریافت کننده اتانول، حساس باشد.

واژگان کلیدی: اتانول، حافظه، تقویت درازمدت (LTP)، پروبیوتیک، شاتل‌باکس

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و چهارم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۹، صفحات ۹-۱

مقدمه

استفاده طولانی‌مدت از اتانول باعث اختلال پیش‌رونده در یادگیری و حافظه می‌شود [۱]. مطالعات نشان می‌دهد که مصرف فرآورده‌های اتانول، باعث ایجاد اختلال برگشت‌پذیر در عملکرد مغز از خفیف تا فراموشی شدید می‌شود و عوارض جانبی متعددی از قبیل: نوروتوکسیسیتی، تغییرات نوروپاتولوژیک و همچنین تغییر در مورفولوژی و عملکرد هیپوکامپ به‌عنوان بخش اصلی درگیر در یادگیری و حافظه را به دنبال دارد [۳،۲]. مطالعات نشان می‌دهد که الکل باعث اختلال در عملکردهای شناختی و همچنین تغییر رفتار عاطفی، به‌ویژه در نوجوانان می‌شود. لازم به ذکر است که زمان استفاده و دوز مصرفی اتانول و نیز حساسیت ژنتیکی افراد در میزان اثر اتانول مؤثر است [۴].

تقویت درازمدت (LTP) یک مکانیزم احتمالی برای سنجش شکل‌گیری حافظه در هیپوکامپ است [۵]. گیرنده‌های NMDA گیرنده‌های تحریکی اصلی درگیر در مکانیسم القای LTP و شکل‌گیری حافظه هستند. برعکس، فعالیت گیرنده‌های GABA بر انعطاف‌پذیری سیناپسی تأثیر منفی می‌گذارد [۷،۶]. تعداد و ترکیب زیرواحدهای گیرنده NMDA میزان حساسیت آن را نسبت به اتانول تعیین می‌کند [۸]. اختلال در نفوذپذیری Ca^{2+}، یون بحرانی و اساسی در انتقال سیناپسی، از اثرات مستقیم الکل بر گیرنده‌های NMDA است [۱۰،۹]. انجام آزمایشات برون‌تنی و درون‌تنی نشان می‌دهد که مصرف الکل، ظرفیت انعطاف‌پذیری سیناپسی را تغییر داده، القای LTP را مهار می‌کند [۱۲،۱۱]. باکتری‌های پروبیوتیک مانند لاکتوباسیل‌ها باعث کاهش بیان گیرنده‌های $GABA_A$ در هیپوکامپ می‌شوند [۱۳]. همچنین نشان داده شده است که پروبیوتیک‌ها بیان گیرنده‌های NMDA را افزایش می‌دهند [۱۴]. تبدیل GABA به گلوتامات و کاهش اثر مهاری آن‌ها توسط باکتری‌های پروبیوتیک نیز تأیید شده است [۱۶،۱۵]. شواهد پیش‌کلینیکی فراوانی نشان می‌دهند که میکروب‌های روده به‌عنوان یک عضو خاموش در بدن انسان، تأثیر مثبتی بر فعالیت‌های شناختی دارند [۱۷]. در مقایسه با ژنوم انسان،

۱. واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست شناسی، تهران، ایران
۲. واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست شناسی، تهران، ایران
۳. پژوهشکده علوم پایه، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

* **نشانی نویسنده مسؤول:**
پژوهشکده علوم پایه، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان
تلفن: ۰۹۱۳۳۶۱۲۹۲۰ **دورنویس:** ۰۳۱۵۵۶۲۱۱۵۷
پست الکترونیک: salami-m@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۵ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۸/۱۰/۸

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

باکتری‌های فلور روده محتوی حدوداً ۱۵۰ برابر ژن بیشتری هستند [۱۸]. میکروب‌های نرمال روده در القای حافظه وابسته به NMDA در هیپوکامپ از اهمیت بالایی برخوردار هستند [۱۴]. در سال‌های اخیر مصرف گونه‌های مختلف لاکتوباسیلوس و بیفیدی باکتریوم به‌عنوان پروبیوتیک در سلامت انسان مورد توجه قرار گرفته‌اند. Ishikawa و همکارانش با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی نشان دادند که مصرف لاکتوباسیلوس‌ها در موش‌های سوری سبب القای نورون‌زایی در هیپوکامپ و بهبود حافظه وابسته به آن می‌شود [۱۹]. همچنین نشان داده شد که مصرف لاکتوباسیلوس‌ها به‌عنوان پروبیوتیک می‌تواند سبب کاهش استرس و به‌دنبال آن افزایش حافظه در انسان شود [۲۰]. شواهد نشان می‌دهد که مصرف باکتری‌های پروبیوتیک باعث از بین رفتن میکروب‌های مضر روده می‌شود [۲۱]. مطالعات نشان می‌دهد که مصرف پروبیوتیک‌ها بر بهبود حافظه‌ی بیماران مبتلا به سندرم روده تحریک‌پذیر اثر دارد؛ به‌طوری‌که در مقایسه با امگا ۳ اثربخشی بیشتری از خود نشان دادند [۲۲]. همچنین مشخص شد که مصرف ۳ هفته پروبیوتیک، سبب کاهش آسیب هیپوکامپ و بهبود یادگیری و حافظه فضایی می‌شود [۲۳]. Cowan و همکارانش نشان دادند که مخلوط پروبیوتیکی، شامل لاکتوباسیلوس رامنوسوس و لاکتوباسیلوس هلوتیکوس سبب بهبود یادگیری در بچه‌موش‌های صحرایی تحت استرس می‌شود [۲۴]. با توجه به اثر مخرب اتانول بر تغییر فلور طبیعی روده [۲۵] و همچنین افزایش روزافزون استفاده از پروبیوتیک‌ها و نقش آن‌ها در بهبود حافظه و یادگیری، ارائه راه‌حلّ درمانی مناسب با استفاده از آن‌ها می‌تواند سبب بهبود علائم رفتاری و نقصان حافظه ناشی از مصرف اتانول شود. مطالعات قبلی ما نشان می‌دهد که حفظ فلور روده در بهبود فعالیت‌های شناختی مؤثر است [۲۶]. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر مکمل پروبیوتیک بر ویژگی‌های رفتاری و الکتروفیزیولوژیکی موش‌های صحرایی آزمایشگاهی تحت مصرف اتانول می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات

برای انجام این مطالعه تجربی، از ۲۸ سر موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۱۵۰ تا ۱۸۰ گرم استفاده شد. حیوانات از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی کاشان تهیه شدند و از نظر شرایط نوری در چرخه ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با دمای ۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۶۰ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. کلیه آزمایشات بر اساس دستورالعمل‌های کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی کاشان انجام شد (IR.IAU.TMU.REC.1398.105).

گروه‌های مورد آزمایش

حیوانات به‌طور تصادفی به ۴ گروه کنترل (CON, n=8)، گروه سالم دریافت‌کننده پروبیوتیک (C+P, n=7)، گروه دریافت‌کننده اتانول (CE, n=5) و گروه دریافت‌کننده اتانول و پروبیوتیک (E+P, n=8) تقسیم‌بندی شدند.

پروبیوتیک‌ها و استفاده از اتانول

مکمل پروبیوتیک شامل: لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم بیفیدیوم و بیفیدوباکتریوم لانگوم (تهیه‌شده از شرکت زیست‌تخمیر) بود. باکتری‌های پروبیوتیک به‌صورت کپسول تهیه شدند و هر کپسول حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم باکتری با تعداد ۱۵×۱۰^{۹} بود. روزانه محتویات هر کپسول پروبیوتیک به‌صورت محلول در ۱ سی‌سی آب مقطر برای مدت ۵۲ روز و از طریق گاواژ به حیوانات خورانده شد [۲۷]. به حیوانات گروه کنترل نیز ۵۲ روز آب مقطر گاواژ خورانده شد. اتانول نیز به‌مدت ۵۲ روز و به‌صورت محلول در آب آشامیدنی (۲۰ درصد حجمی/حجمی) تجویز شد [۲۸]. بدین‌صورت که با توجه به نیاز روزانه حیوانات بالغ به ۵۰ میلی‌لیتر آب، به ازای هر ۴۰ میلی‌لیتر آب، ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه شد.

تست رفتاری

دستگاه شاتل‌باکس متشکل از دو بخش روشن و تاریک با اندازه برابر (۲۰×۸۰×۲۰ سانتی‌متر) می‌باشد که توسط یک درِ گیوتین جدا می‌شوند. این تست احترازی - اجتنابی مهاری شامل دو مرحله آموزش و بازیابی حافظه است. در مرحله آموزش، حیوانات به‌مدت ۵ ثانیه در محفظه روشن قرار می‌گیرند و سپس درِ گیوتینی باز شده، حیوان مجاز به حرکت آزادانه به محفظه تاریک است. پس از ورود به محفظه تاریک در، بسته شده، حیوان به‌مدت ۳ ثانیه شوک الکتریکی (۱ میلی‌آمپر) دریافت می‌کند و بعد از گذشت ۲۰ ثانیه به قفس بازگردانده می‌شود. در فاز حافظه (۲۴ ساعت بعد از آموزش)، مجدداً حیوان مطابق روش ذکرشده در محفظه روشن قرار گرفته، تأخیر ورود به محفظه تاریک ثبت می‌شود. میزان تأخیر در ورود به محفظه تاریک، نشان‌دهنده پاسخ اجتنابی موفق است. زمان کلّ آزمایش ۳۰۰ ثانیه می‌باشد [۲۹].

الکتروفیزیولوژی

آماده‌سازی حیوانات و جاگذاری الکترود

برای ثبت خارج سلولی، حیوانات به‌وسیله تزریق داخل صفاقی اورتان (۱/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

شدند و در دستگاه استریوتاکس قرار گرفتند. پس از ثابت شدن سر حیوان، جهت ایجاد بی‌حسی موضعی، زیر پوست جمجمه لیدوکائین تزریق شد. در مرحله بعد، شکافی از ناحیه پشت گردن تا بالای بینی ایجاد شد که جمجمه نمایان شود. سپس بر اساس اطلس Paxinos و با توجه به فاصله بین برگما و لامبدا، دو سوراخ با استفاده از دریل دندانپزشکی، بالای جمجمه برای الکترود تحریکی در ناحیه CA3 و الکترود ثبات در ناحیه CA1 ایجاد شد. صحت مکان قرارگیری الکترودها بر اساس شواهد الکتروفیزیولوژیکی تأیید شد.

روش ثبت

در پاسخ به پالس‌های اعمال‌شده به ناحیه CA3 مسیر کولترال شافر، پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی میدانی (fEPSPs) در ناحیه CA1 هیپوکامپ ثبت شد. برای این منظور، پس از استقرار الکترودها در محلّ تعیین‌شده و نمایان‌شدن پاسخ، تحریک به‌مدت ۳۰ دقیقه ادامه یافت تا پاسخ‌ها ثابت و یکنواخت شوند. بعد از پایدارشدن پاسخ‌ها، شدت تحریک با رسم منحنی ورودی/خروجی تعیین شد. برای تمام مراحل، شدت تحریک ثابت و برابر ۶۰ درصد ماکزیمم پتانسیل پس‌سیناپسی تحریکی میدانی تنظیم شد و پاسخ به‌مدت ۳۰ دقیقه با فاصله زمانی ۳۰ ثانیه به‌عنوان پاسخ پایه ثبت شد. سپس با استفاده از تحریک تتانوس با فرکانس بالا (۱۰ قطار تحریک با فرکانس ۱۰ هرتز، فاصله ۲ هزارم ثانیه و زمان تحریکی ۰/۱ هزارم ثانیه برای هر پالس) تقویت درازمدت (LTP) القا شد. به دنبال اعمال تحریک تتانوس، پاسخ نورونی به‌طور مداوم برای ۶۰ دقیقه و با فاصله زمانی ۳۰ ثانیه ثبت شد [۳۰].

تحلیل داده‌ها

جهت آنالیز داده‌های جمع‌آوری‌شده از آزمایشات رفتاری و الکتروفیزیولوژیک از آزمون واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی Tukey استفاده شد. در آزمون احترازی - اجتنابی مهاری، تأخیر برای ورود به محفظه تاریک مورد بررسی قرار گرفت. مقدار پاسخ‌های به‌دست‌آمده از آزمایشات الکتروفیزیولوژی قبل و بعد از اعمال تحریک تتانوس جهت ارزیابی القای LTP مورد بررسی قرار گرفت. برای نرمال‌کردن داده‌ها، دامنه پاسخ پیش از تتانوس به‌عنوان ۱۰۰ درصد (پاسخ پایه) در نظر گرفته شد و دامنه پاسخ پس از تحریک با آن مقایسه شد. محاسبات به شرح زیر است:

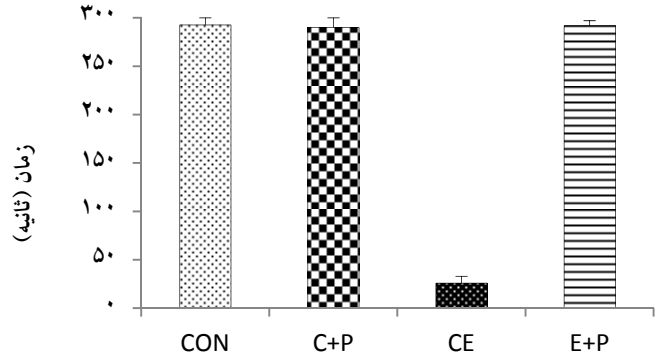
دامنه پاسخ پیش از تحریک/ دامنه پاسخ پیش از تحریک – دامنه پاسخ پس از تحریک*۱۰۰+۱۰۰

تمام داده‌ها به‌صورت mean ± SEM ارائه شدند و P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

تست احترازی - اجتنابی مهاری

نتایج نشان می‌دهد که در گروه‌های CE و CON میزان تأخیر در ورود به محفظه تاریک، به‌ترتیب ۷/۲۲±۲۵/۸۶ ثانیه و ۷/۲۰ ± ۲۹۲/۸۰ ثانیه بود (P<۰/۰۰۱). تجویز پروبیوتیک سبب بهبود فعالیت‌های شناختی و حافظه در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده اتانول شد؛ به‌طوری‌که زمان تأخیر در ورود به محفظه روشن برای حیوانات گروه E+P برابر ۱۰/۰۰±۲۹۰/۰۰ ثانیه بود P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه CE). مکمل پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر بهبود حافظه حیوانات سالم نداشت، به‌طوری‌که میزان تأخیر در ورود به محفظه تاریک برای گروه C+P تقریباً مشابه گروه کنترل بود (۵/۴۳±۲۹۱/۶۷) (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱- مقایسه زمان تأخیر ثانویه در آزمون احترازی - اجتنابی مهاری در بین گروه‌ها. داده‌ها نشان می‌دهند که حیوانات گروه دریافت‌کننده اتانول (CE) زمان تأخیر کمتری در ورود به محفظه روشن در مقایسه با گروه‌های دیگر صرف کرده‌اند (* P<۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل (CON)

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

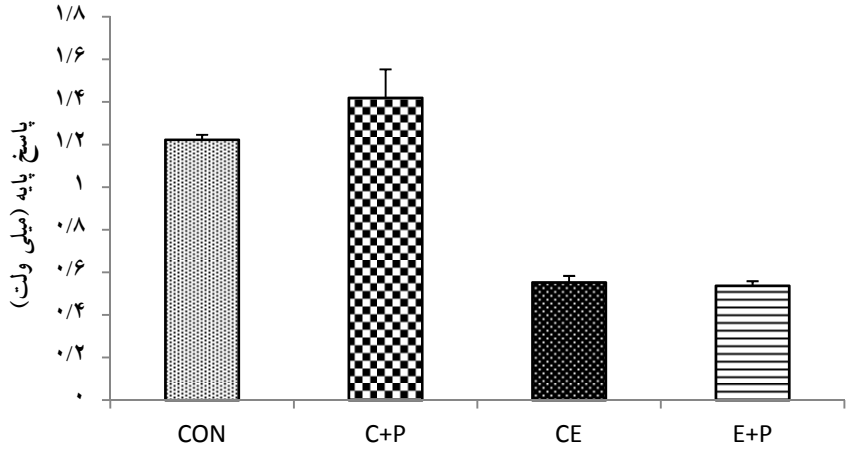
ثبت الکتروفیزیولوژیک

پتانسیل تحریکی ثبت‌شده قبل از تحریک تتانوس از مسیر کولترال شافر در ناحیه CA1 به‌عنوان پاسخ پایه در نظر گرفته شد. بعد از اعمال تحریک تتانوس، پاسخ‌های مسیر فوق به‌مدت ۶۰ دقیقه جهت ارزیابی سطح انعطاف‌پذیری مسیر CA3-CA1 ثبت شدند. آزمون ANOVA اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های مورد آزمایش نشان داد ($P<۰/۰۰۱$، $F_{۳و۱۶۷۶}=۲۹/۰۸$).

ثبت پاسخ پایه در ناحیه CA1 هیپوکامپ

نتایج آزمایشات الکتروفیزیولوژیک نشان داد که اتانول به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای پاسخ پایه ثبت‌شده از مدار کولترال شافر هیپوکامپ را سرکوب می‌کند. درحالی‌که مقدار متوسط دامنه پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی میدانی ثبت‌شده از گروه کنترل ۱/۲۲±۰/۰۲ میلی‌ولت بود. این مقدار در حیوانات دریافت‌کننده اتانول (در مقایسه با گروه CON) حدوداً به نصف (۰/۳± ۰/۵۵ میلی‌ولت) کاهش یافت ($P<۰/۰۰۱$).

مقدار مشابه پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی میدانی در رت‌های گروه E+P و گروه CE (به‌ترتیب ۰/۵۳±۰/۲۳ و ۰/۵۵±۰/۲۶ میلی‌ولت) مشاهده شد. همچنین ما یک اثر مثبت ناچیز و قابل چشم‌پوشی از درمان با پروبیوتیک را در پاسخ‌های پایه گرفته‌شده از گروه C+P (در مقایسه با گروه CON) مشاهده کردیم (۱/۴۱±۰/۱۳ میلی‌ولت؛ $P=۰/۱۲$ در برابر گروه CON) (شکل شماره ۲).

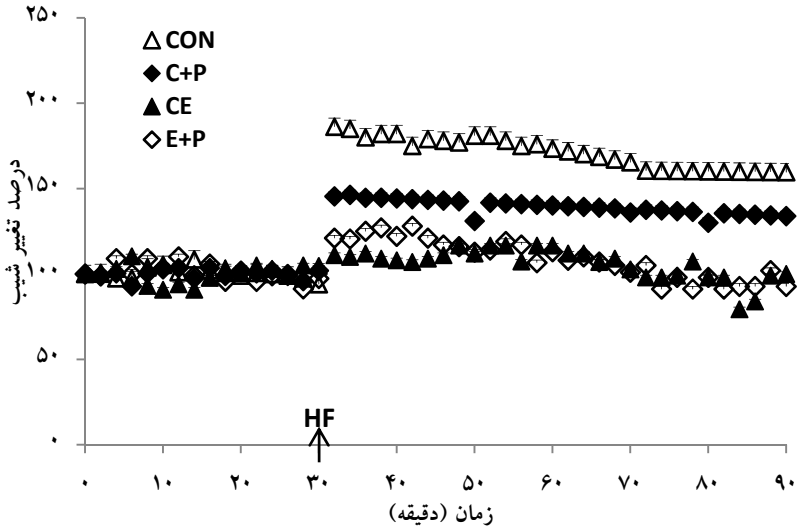


شکل شماره ۲- میزان متوسط پاسخ پایه پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی میدانی ثبت‌شده از ناحیه CA1 هیپوکامپ. مقادیر پاسخ پایه پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی میدانی در حیوانات گروه دریافت‌کننده اتانول (CE) و گروه دریافت‌کننده اتانول و پروبیوتیک (E+P) نسبت به گروه کنترل (CON) کاهش یافته است* ($P<۰/۰۰۱$)؛ درحالی‌که حیوانات گروه سالم دریافت‌کننده پروبیوتیک (C+P) دارای مقدار دامنه‌ی پاسخ مشابه با گروه CON هستند ($P=۰/۱۲$).

القای LTP در پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی میدانی در ناحیه CA1 هیپوکامپ

اعمال تحریک تتانوس موجب القای LTP قابل‌توجهی در پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی میدانی ثبت‌شده از گروه CON شد. پاسخ‌های ثبت‌شده پس از اعمال تحریک تتانوس نشان‌دهنده افزایش پایدار در دامنه پاسخ‌ها است ($P<۰/۰۰۱$). گروه کنترل درمان‌شده با پروبیوتیک نیز القای LTP در پتانسیل پس‌سیناپسی را به‌دنبال تحریک تتانوس نشان داد ($P<۰/۰۰۱$). مصرف الکل به‌طور مؤثر از القای LTP جلوگیری کرد؛ به‌طوری‌که هیچ تغییر قابل‌ملاحظه‌ای پس از تحریک با فرکانس بالا (HFS) در مقایسه با پاسخ‌های پایه ثبت‌شده از حیوانات گروه CE مشاهده نشد. پاسخ پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی میدانی ثبت‌شده از گروه E+P تحت درمان با پروبیوتیک نیز تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای نسبت به گروه CE نداشت (شکل شماره ۳).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]



شکل شماره ۳- درصد تغییر پاسخ پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی میدانی پس از تحریک تتانوس. تحریک تتانیک به‌طور قابل‌توجهی باعث القای LTP در حیوانات گروه کنترل (CON) و گروه سالم دریافت‌کننده پروبیوتیک (C+P) شد. ($P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با شروع اولیه). از سوی دیگر، القای LTP در پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی میدانی ثبت‌شده از حیوانات گروه دریافت‌کننده اتانول (CE) و گروه دریافت‌کننده اتانول و پروبیوتیک (E+P) ناموفق بود. پیکان، زمان استفاده از تحریک تتانیک با فرکانس بالا (HFS) را نشان می‌دهد. هر نقطه نشان‌دهنده میانگین داده‌ها در طی ۲ دقیقه است.

بحث

اتانول نوعی ماده ضدّباکتری و ضدّقارچ است که در بسیاری از جوامع امروزی به‌عنوان مشروبات الکلی مورد سوء استفاده قرار گرفته است. از آن‌جا که مصرف الکل باعث آسیب مغزی و تغییرات رفتاری می‌شود، از این‌رو شناسایی زودهنگام اثرات اتانول بر سلامتی از اهمیت خاصّی برخوردار است [۳۲،۳۱]. یافته‌های این مطالعه نشان داد که مصرف اتانول مزمن بر شکل‌پذیری حافظه در حیوانات اثر منفی می‌گذارد. نتایج حاصل از شاتل‌باکس نشان داد که درمان ۵۲ روز با اتانول سبب کاهش زمان تأخیر حیوانات در ورود به اتاق تاریک می‌شود که ثابت‌کننده نقص حافظه در حیوانات تحت‌درمان با الکل است. تقویت درازمدت (LTP) به‌عنوان یک روش تجربی برای ارزیابی انعطاف‌پذیری سیناپسی در مدارهای هیپوکامپ و ملاک سنجش حافظه کاربرد دارد [۳۳]. در این مطالعه نشان داده شد که مصرف اتانول به‌صورت مزمن، القای LTP را در هیپوکامپ مهار می‌کند. داده‌های به‌دست‌آمده از این مطالعه با مطالعات قبلی مطابقت دارند و بیانگر این مطلب هستند که مصرف اتانول سبب تخریب شکل‌گیری حافظه وابسته به هیپوکامپ می‌شود [۳۵،۳۴]. سیستم کولینرژیک در شکل انتقال سیناپسی و شکل‌گیری حافظه دخالت دارد؛ به‌طوری‌که در هیپوکامپ افراد تحت‌درمان با الکل این سیستم سرکوب می‌شود. نشان داده شده است که عدم کارایی این سیستم سبب کاهش فعالیت‌های شناختی البته به‌صورت برگشت‌پذیر در مدل‌های حیوانی می‌شود [۳۷،۳۶]. از لحاظ بافت‌شناسی، مصرف الکل برای یک دوره طولانی‌مدت منجر به تغییرات شیمیایی و مورفولوژیکی غیرمعمول در سیستم عصبی مرکزی، به‌ویژه در هیپوکامپ می‌شود [۳۹،۳۸]. از آن‌جایی‌که هیپوکامپ در روند حافظه نقش دارد، مصرف الکل مزمن منجر به اختلال در حافظه و شناخت می‌شود. الکل، اختلال در حافظه کاری، فضایی، غیرفضایی و همچنین اختلال در وظایف تشخیص شیء را القا می‌کند که این موضوع در تحقیقات حیوانی نیز اثبات شده است [۴۰]. میکروب‌های فلور روده در سلامت میزبان نقش مهمّی دارند و بر بسیاری از عملکردهای مغزی شامل رفتار، توسعه CNS، یادگیری و حافظه تأثیر می‌گذارند [۴۲،۴۱]. از این‌رو، استراتژی امروزه صنایع غذایی، حمایت از میکروب‌های روده است [۴۳]. O'Hagan و همکارانش در سال ۲۰۱۷ به بررسی اثر مصرف گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم به‌عنوان مکمل پروبیوتیکی بر بهبود حافظه و رفتار در موش‌های صحرایی پرداختند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که مصرف طولانی‌مدت و روزانه لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم سبب تغییر در متابولیت‌های بخش‌های مختلف مغز و به‌دنبال آن بهبود حافظه می‌شود [۴۴]. obayashi و همکاران در بررسی اثر بیفیدوباکتریوم به‌عنوان پروبیوتیک در بهبود فعالیت‌های شناختی و حافظه افراد سالمند به این نتیجه رسیدند که مصرف روزانه به‌مدت ۱۲ هفته می‌تواند در بهبود فعالیت‌های شناختی و همچنین حافظه، نقش بسزایی داشته

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

باشد [۴۵]. در مطالعه‌ای دیگر توسط Singh و همکارانش روی حیوانات تحت‌تأثیر الکل، مشخص شد که مصرف پروبیوتیک سبب بهبود آسیب اکسیداتیو و به‌دنبال آن بهبود یادگیری در حیوانات می‌شود [۴۶]. در این مطالعه مشخص شد که باکتری‌های پروبیوتیک می‌توانند باعث کاهش اثر تخریبی الکل بر حافظه حیوانات در تست شاتل‌باکس شوند. تحقیقات در مدل‌های حیوانی نشان می‌دهد که تجویز مخلوط پروبیوتیک باعث بهبود اختلال یادگیری و حافظه می‌شود [۴۸،۴۷]؛ به‌طوری‌که اثر بهبوددهنده انتروکوکوس فاسیوم بر حافظه به‌خصوص حافظه فضایی در موش‌های صحرایی اثبات شده است [۴۹]. همچنین مطالعات تجربی [۵۰] و بالینی [۵۱] ما نشان می‌دهد که مکمل پروبیوتیک ممکن است بر فعالیت‌های شناختی نیز تأثیر بگذارد. با در نظر گرفتن نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر و یافته‌هایی از دیگر مدل‌های حیوانی اختلال حافظه و همچنین مطالعات قبلی ما، این‌طور به نظر می‌رسد که درمان با پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری سبب بهبود عملکرد شناختی تخریب‌شده در حیوانات تیمارشده با اتانول می‌شود. به‌هرحال، از دیدگاه الکتروفیزیولوژی، مصرف پروبیوتیک نتوانسته است بر سرکوب LTP در رت‌های گروه CE تأثیرگذار باشد. شواهد نشان می‌دهد که باکتری‌های پروبیوتیک بر انعطاف‌پذیری انتقال سیناپسی اثر ناچیزی دارند. در مطالعات متعددی اثر مفید پروبیوتیک‌ها بر القای LTP در هیپوکامپ ثبت شده است. ما نیز در مطالعات قبلی خود نشان دادیم که پروبیوتیک‌ها سبب بازیابی اختلال LTP در یک مدل حیوانی دیابتی می‌شوند [۵۱]. Distrutti و همکاران ثابت کردند که مخلوط پروبیوتیکی VSL#3 سبب بهبود نقصان ایجادشده حافظه در اثر افزایش سن می‌شود [۵۲]. از طرفی Romo Araiza و همکاران دریافتند که درمان با پروبیوتیک‌ها منجر به القای تقویت درازمدت (LTP) در رت‌های میانسال می‌شود [۴۹]. در کل به‌نظر می‌رسد علیرغم تأثیر مثبت پروبیوتیک‌ها بر جنبه‌های رفتاری شناخت، مداخله نمی‌تواند بر فعالیت سیناپسی به‌طور مستقیم تأثیر بگذارد. برای این‌که مشخص شود کدام ویژگی‌های انتقال سیناپسی به تزریق اتانول و درمان پروبیوتیک حساس است، تحقیقات بیشتری لازم است.

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج به‌دست‌آمده، علیرغم اثر پروبیوتیک بر بهبود حافظه در آزمایشات رفتاری، تجویز آن اثری بر فعالیت سیناپسی نداشته است. انجام آزمایش‌های تکمیلی جهت شناسایی جنبه‌های مختلف اثر اتانول و پروبیوتیک بر القای LTP ضرروی به‌نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

تمام آزمایش‌ها در مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان انجام شد. بدین‌وسیله از شرکت زیست‌تخمیر (تهران، ایران) برای تهیه باکتری‌های پروبیوتیک قدردانی می‌گردد. این مطالعه توسط دانشگاه آزاد اسلامی (واحد تهران شمال) پشتیبانی مالی شده است.

References:

[1] Luchiari AC, Salajan DC, Gerlai R. Acute and chronic alcohol administration: effects on performance of zebrafish in a latent learning task. ***Behav Brain Res*** 2015; 282: 76-83.

[2] Ambrose ML, Bowden SC, Whelan G. Working memory impairments in alcohol-dependent participants without clinical amnesia. ***Alcohol Clin Exp Res*** 2001; 25(2): 185-91.

[3] Oliveira AC, Pereira MC, Santana LN, Fernandes RM, Teixeira FB, Oliveira GB, et al. Chronic ethanol exposure during adolescence through early adulthood in female rats induces emotional and memory deficits associated with morphological and molecular alterations in hippocampus. ***J Psychopharmacol*** 2015; 29(6): 712-24.

[4] Wang X, Yu H, You J, Wang C, Feng C, Liu Z, et al. Memantine can improve chronic ethanol exposure-induced spatial memory impairment in male C57BL/6 mice by reducing hippocampal apoptosis. ***Toxicology*** 2018; 406-407: 21-32.

[5] Soheili M, Tavirani MR, Salami M. Lavandula angustifolia extract improves deteriorated synaptic plasticity in an animal model of Alzheimer's disease. ***Iran J Basic Med Sci*** 2015; 18(11): 1147-52.

[6] Mott DD, Lewis DV. Facilitation of the induction of long-term potentiation by GABAB receptors. ***Science*** 1991; 252(5013): 1718-20.

[7] Talaei SA, Salami M. Sensory experience differentially underlies developmental alterations of LTP in CA1 area and dentate gyrus. ***Brain Res***. 2013; 1537: 1-8.

[8] Peris J, Anderson KJ, Vickroy TW, King MA, Hunter BE, Walker DW. Neurochemical basis of disruption of hippocampal long term potentiation by chronic alcohol exposure. ***Front Biosci*** 1997; 2: 309-16.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

[9] Dildy-Mayfield JE, Leslie SW. Mechanism of inhibition of N-methyl-D-aspartate-stimulated increases in free intracellular Ca2+ concentration by ethanol. ***J Neurochem***. 1991; 56(5): 1536-43.
[10] Hoffman PL, Rabe CS, Moses F, Tabakoff B. N-methyl-D-aspartate receptors and ethanol: inhibition of calcium flux and cyclic GMP production. ***J Neurochem*** 1989; 52(6): 1937-40.
[11] Zorumski CF, Mennerick S, Izumi Y. Acute and chronic effects of ethanol on learning-related synaptic plasticity. ***Alcohol*** 2014; 48(1): 1-17.
[12] DePoy L, Daut R, Brigman JL, MacPherson K, Crowley N, Gunduz-Cinar O, et al. Chronic alcohol produces neuroadaptations to prime dorsal striatal learning. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 2013; 110(36): 14783-8.
[13] Davis DJ, Doerr HM, Grzelak AK, Busi SB, Jasarevic E, Ericsson AC, et al. Lactobacillus plantarum attenuates anxiety-related behavior and protects against stress-induced dysbiosis in adult zebrafish. ***Sci Rep*** 2016; 6: 1-11.
[14] Maqsood R, Stone TW. The Gut-Brain Axis, BDNF, NMDA and CNS Disorders. ***Neurochem Res*** 2016; 41(11): 2819-35.
[15] Soeiro-de-Souza MG, Henning A, Machado-Vieira R, Moreno RA, Pastorello BF, da Costa Leite C, et al. Anterior cingulate Glutamate-Glutamine cycle metabolites are altered in euthymic bipolar I disorder. ***Neuropsychopharmacology*** 2015; 25(12): 2221-9.
[16] Michels G, Moss SJ. GABAA receptors: properties and trafficking. ***Crit Rev Biochem Mol Biol*** 2007; 42(1): 3-14.
[17] Agahi A, Hamidi GA, Daneshvar R, Hamdieh M, Soheili M, Alinaghipour A, et al. Does Severity of Alzheimer's Disease Contribute to Its Responsiveness to Modifying Gut Microbiota? A Double Blind Clinical Trial. ***Front Neurol*** 2018; 9: 662.
[18] Lazar V, Ditu LM, Pircalabioru GG, Picu A, Petcu L, Cucu N, et al. Gut Microbiota, Host Organism, and Diet Trialogue in Diabetes and Obesity. ***Front Nutr*** 2019; 6: 21.
[19] Ishikawa R, Fukushima H, Nakakita Y, Kado H, Kida S. Dietary heat-killed Lactobacillus brevis SBC8803 (SBL88) improves hippocampus-dependent memory performance and adult hippocampal neurogenesis. ***Neuropsychopharmacol Rep*** 2019; 39(2): 140-45.
[20] Lew LC, Hor YY, Yusoff NAA, Choi SB, Yusoff MSB, Roslan NS, et al. Probiotic Lactobacillus plantarum P8 alleviated stress and anxiety while enhancing memory and cognition in stressed adults: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. ***Clin Nutr*** 2018; 38(5): 2053-64.
[21] Markowiak P, Slizewska K. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. ***Nutrients*** 2017; 9(9): 1-30.
[22] Misra S, Medhi B. Role of probiotics as memory enhancer. ***Indian J Pharmacol*** 2013; 45(3): 311-12.
[23] Rahmati H, Momenabadi S, Vafaei AA, Bandegi AR, Mazaheri Z, Vakili A. Probiotic supplementation attenuates hippocampus injury and spatial learning and memory impairments in a cerebral hypoperfusion mouse model. ***Mol Biol Rep*** 2019; 46(5): 4985-95.
[24] Cowan CSM, Callaghan BL, Richardson R. The effects of a probiotic formulation (Lactobacillus rhamnosus and L. helveticus) on developmental trajectories of emotional learning in stressed infant rats. ***Transl Psychiatry*** 2016; 6(5): 1-8.
[25] Engen PA, Green SJ, Voigt RM, Forsyth CB, Keshavarzian A. The Gastrointestinal Microbiome: Alcohol Effects on the Composition of Intestinal Microbiota. ***Alcohol Res*** 2015; 37(2): 223-36
[26] Bagheri S, Heydari A, Alinaghipour A, Salami M. Effect of probiotic supplementation on seizure activity and cognitive performance in PTZ-induced chemical kindling. ***Epilepsy Behav*** 2019; 95: 43-50.
[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] Arendt T, Allen Y, Marchbanks RM, Schugens MM, Sinden J, Lantos PL, et al. Cholinergic system and memory in the rat: effects of chronic ethanol, embryonic basal forebrain brain transplants and excitotoxic lesions of cholinergic basal forebrain projection system. ***Neuroscience*** 1989; 33(3): 435-62.
[29] Akbarabadi A, Niknamfar S, Vousooghi N, Sadat-Shirazi MS, Toolee H, Zarrindast MR. Effect of rat parental morphine exposure on passive avoidance memory and morphine conditioned place preference in male offspring. ***Physiol Behav*** 2018; 184: 143-9.
[30] Soheili M, Tavirani MR, Salami M. Lavandula angustifolia extract improves deteriorated synaptic plasticity in an animal model of Alzheimer's disease. ***Iran J Basic Med Sci*** 2015; 18(11): 1147-52.
[31] Garcia-Moreno LM, Cimadevilla JM. Acute and chronic ethanol intake: effects on spatial and non-spatial memory in rats. ***Alcohol*** 2012; 46(8): 757-62.
[32] Friedman TW, Robinson SR, Yelland GW. Impaired perceptual judgment at low blood alcohol concentrations. ***Alcohol*** 2011; 45(7): 711-18.
[33] Salami M, Fathollahi Y, Semnanian S, Atapour N. Differential effect of dark rearing on long-term potentiation induced by layer IV and white matter stimulation in rat visual cortex. Neurosci Res 2000; 38(4): 349-56.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

[34] Hasanein P, Seifi R, Hajinezhad MR, Emamjomeh A. Rosmarinic acid protects against chronic ethanol-induced learning and memory deficits in rats. ***Nutr Neurosci*** 2017; 20(9): 547-54.
[35] Zhang Y, Li S, Wang W, Xu C, Liang S, Liu M, et al. Beneficial effects of polydatin on learning and memory in rats with chronic ethanol exposure. ***Int J Clin Exp Pathol*** 2015; 8(9): 11116-23.
[36] Swartzwelder HS, Acheson SK, Miller KM, Sexton HG, Liu W, Crews FT, et al. Adolescent Intermittent Alcohol Exposure: Deficits in Object Recognition Memory and Forebrain Cholinergic Markers. ***PloS one*** 2015; 10(11): 1-13.
[37] Brown MT, Tan KR, O'Connor EC, Nikonenko I, Muller D, Luscher C. Ventral tegmental area GABA projections pause accumbal cholinergic interneurons to enhance associative learning. ***Nature*** 2012; 492(7429): 452-56.
[38] Riley JN, Walker DW. Morphological alterations in hippocampus after long-term alcohol consumption in mice. ***Science*** 1978; 201(4356): 646-8.
[39] Sircar R, Basak AK, Sircar D. Repeated ethanol exposure affects the acquisition of spatial memory in adolescent female rats. ***Behav brain res*** 2009; 202(2): 225-31.
[40] Berry RB, Matthews DB. Acute ethanol administration selectively impairs spatial memory in C57BL/6J mice. ***Alcohol*** 2004; 32(1): 9-18.
[41] Ma Q, Xing C, Long W, Wang HY, Liu Q, Wang RF. Impact of microbiota on central nervous system and neurological diseases: the gut-brain axis. ***J neuroinflammation*** 2019; 16(1): 1-14.
[42] Dai CE, Li HL, He XP, Zheng FF, Zhu HL, Liu LF, et al. Research advance in metabolism of effective ingredients from traditional Chinese medicines by probiotics. ***Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*** 2018; 43(1): 31-38.
[43] Hossain MI, Sadekuzzaman M, Ha SD. Probiotics as potential alternative biocontrol agents in the agriculture and food industries: A review. ***Food Res Iint*** 2017; 100(1): 63-73.
[44] O'Hagan C, Li JV, Marchesi JR, Plummer S, Garaiova I, Good MA. Long-term multi-species Lactobacillus and Bifidobacterium dietary supplement enhances memory and changes regional brain metabolites in middle-aged rats. ***Neurobiol Learn Mem*** 2017; 144: 36-47.
[45] obayashi Y, Kuhara T, Oki M, Xiao JZ. Effects of Bifidobacterium breve A1 on the cognitive function of older adults with memory complaints: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. ***Benef Microbes*** 2019; 10(5): 511-20.
[46] Singh AK, Pandey SK, Naresh Kumar G. Pyrroloquinoline quinone-secreting probiotic Escherichia coli Nissle 1917 ameliorates ethanol-induced oxidative damage and hyperlipidemia in rats. ***Alcohol Clin Exp Res*** 2014; 38(7): 2127-37.
[47] Ho ST, Hsieh YT, Wang SY, Chen MJ. Improving effect of a probiotic mixture on memory and learning abilities in d-galactose-treated aging mice. ***J Dairy Sci*** 2019; 102(3): 1901-9.
[48] Jeong JJ, Kim KA, Ahn YT, Sim JH, Woo JY, Huh CS, et al. Probiotic Mixture KF Attenuates Age-Dependent Memory Deficit and Lipidemia in Fischer 344 Rats. ***J Microb Biotech*** 2015; 25(9): 1532-36.
[49] Romo-Araiza A, Gutierrez-Salmean G, Galvan EJ, Hernandez-Frausto M, Herrera-Lopez G, Romo-Parra H, et al. Probiotics and Prebiotics as a Therapeutic Strategy to Improve Memory in a Model of Middle-Aged Rats. ***Front Aging Neurosci*** 2018; 10: 1-15.
[50] 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.
[51] 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.
[52] Distrutti E, O'Reilly JA, McDonald C, Cipriani S, Renga B, Lynch MA, et al. Modulation of intestinal microbiota by the probiotic VSL#3 resets brain gene expression and ameliorates the age-related deficit in LTP. ***PloS One*** 2014; 9(9): e106503.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]