

اثرات آستاگزانتین بر اختلالات یادگیری و حافظه و آسیب اکسیداتیو القا شده با اتانول در

ناحیه هیپوکامپ موش کوچک آزمایشگاهی

اکبر حاجی‌زاده مقدم^{۱*}، فرهاد سامعی^۱، صدیقه خانجانی جلودار^۱، فاطمه ملک‌زاده اسطلخی^۱

ایران، بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه علوم جانوری

مسئول مکاتبات: اکبر حاجی‌زاده مقدم a.hajizadeh@umz.ac.ir

چکیده. مصرف طولانی مدت اتانول با القای استرس اکسیداتیو، نوروپاتی‌های سیستم عصبی مرکزی و سلول‌های هیپوکامپ را از بین می‌برد. آستاگزانتین (ATX) کاروتنوئیدی آنتی‌اکسیدان و ضدالتهاب است. این مطالعه با هدف بررسی اثرات آستاگزانتین بر اختلالات یادگیری و حافظه و آسیب اکسیداتیو ناشی از اتانول در هیپوکامپ موش کوچک آزمایشگاهی انجام شد. ۳۵ سر موش کوچک آزمایشگاهی به پنج گروه تقسیم شدند (n=۷): گروه کنترل هیچ درمانی دریافت نکردند. گروه آستاگزانتین، ATX با دوز ۲۰ mg/kg دریافت کرد. گروه اتانول، اتانول ۲۰٪ دریافت کرد. دو گروه تیمار ATX با دوزهای ۱۰ و ۲۰ mg/kg که ابتدا اتانول ۲۰٪ و سپس ATX دریافت کردند. تمام درمان‌ها به مدت ۱۴ روز متوالی و به صورت خوراکی انجام شد. در این پژوهش، تست تشخیص شیء جدید (NORT)، سطوح مالون‌دی‌آلدهید (MDA) و دوپامین (DA)، فعالیت کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در هیپوکامپ موش‌ها ارزیابی شد. مصرف اتانول باعث کاهش شاخص تمایز (شناسایی شیء جدید) در NORT، فعالیت CAT و SOD و افزایش سطوح DA و MDA نسبت به گروه کنترل شد. درحالی‌که، درمان ATX منجر به افزایش شاخص تمایز در NORT، فعالیت CAT و SOD و کاهش سطح DA و MDA در مقایسه با گروه اتانول شد. نتایج نشان داد که آستاگزانتین احتمالاً بواسطه خواص آنتی‌اکسیدانی می‌تواند نقایص شناختی و آسیب اکسیداتیو ناشی از اتانول را بهبود بخشد. بنابراین، احتمالاً آستاگزانتین می‌تواند به عنوان یک مکمل غذایی و دارویی بالقوه برای کاهش اختلالات ناشی از اتانول استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: آستاگزانتین، اتانول، هیپوکامپ، اختلال شناختی

Effects of Astaxanthin on Learning and Memory Disorders and Oxidative Damage Induced by Ethanol in the Hippocampal Area in Mice

Akbar Hajizadeh Moghaddam^{1*}, Farhad Samei¹, Sedigheh Khanjani Jelodar¹, Fatemeh Malekzadeh Estalkhi¹

Corresponding author: a.hajizadeh@umz.ac.ir

Abstract. Long-term ethanol consumption causes oxidative stress, leading to neuron destruction in the central nervous system and hippocampus. Astaxanthin (ATX), an antioxidant and anti-inflammatory carotenoid, was studied for its effects on ethanol-induced learning and memory impairments and oxidative damage in the hippocampus of mice. Thirty-five mice were divided into five groups (n=7): a control group with no treatment, an Astaxanthin group receiving 20 mg/kg ATX, an ethanol group receiving 20% ethanol, and two ATX treatment groups receiving 10 and 20 mg/kg ATX after 20% ethanol. Treatments were administered orally for 14 days. The study analyzed the novel object recognition test (NORT), malondialdehyde (MDA) and dopamine (DA) levels, and activities of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) in the hippocampus. Ethanol consumption reduced the NORT discrimination index and CAT and SOD activities, while increasing DA and MDA levels compared to the control group. ATX treatment improved the NORT discrimination index and CAT and SOD activities, and decreased DA and MDA levels compared to the ethanol group. The results indicate that astaxanthin's antioxidant properties can mitigate ethanol-induced cognitive deficits and oxidative damage, suggesting its potential as a food and drug supplement to alleviate ethanol-induced disorders.

Key words. Astaxanthin, Ethanol, Hippocampus, Cognitive impairment

Received 04.02.2024/ Revised 23.05.2024/ Accepted 09.06.2024/ Published 23.05.2024

دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۵ اصلاح: ۱۴۰۳/۰۳/۲۰ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۰ انتشار: ۱۴۰۲/۱۲/۲۰

مقدمه

گلوتاماترژیک، مسیرهای عصبی شناخته شده تحت تأثیر مصرف الکل محسوب می‌شوند (Banerjee, 2014). دوپامین یک انتقال‌دهنده عصبی مهم است که در مکانیسم پاداش در مغز نقش دارد و در نتیجه بر شدت وابستگی به الکل نیز تأثیر می‌گذارد. دوپامین به وضوح در افزایش حرکتی و حساسیت ناشی از اتانول دخیل است (Abraham et al., 2017). به همین دلیل مصرف الکل را می‌توان با تزریق دوزهای پایین یک آنتاگونیست دوپامین به طور مستقیم مسدود کرد. علاوه بر این، مصرف الکل منجر به تولید دوپامین می‌شود که با افزایش سطوح دوپامین در مایع بیرونی نورون‌ها تعیین می‌شود. در نتیجه افزایش دوپامین و یا حساسیت گیرنده دوپامین، احتمالاً باعث تقویت رفتارهای ناشی از اتانول می‌شود (Banerjee, 2014).

آنتی اکسیدان‌ها، ترکیباتی با توانایی مقابله با استرس اکسیداتیو و کاهش اثرات آن بر سلامت افراد هستند. این ترکیبات از بدن در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند (Pisoschi et al., 2021). آستاگزانتین (ATX) یک ترپن لیپوفیلیک تشکیل شده از پیش‌سازهای کربن و رنگدانه اکسی کاروتنوئیدی طبیعی قرمز-نارنجی رنگ است، که به عنوان یک کاروتنوئید گزارتوفیل محلول در چربی در نظر گرفته می‌شود. آستاگزانتین در مخمرها، کرپل، قزل آلا، ریزجلبک، میگو و خرچنگ وجود دارد. منابع صنعتی برای آستاگزانتین طبیعی، میکروجلبک و هماتوکوکوس پلوویالیس هستند (Ekpe et al., 2018; Chang & Xiong, 2020).

آستاگزانتین از سد خونی-مغزی عبور می‌کند، بنابراین می‌تواند از مغز محافظت کند (Manabe et al., 2018). به دلیل اثرات دارویی بالقوه خود از جمله خواص آنتی اکسیدانی قوی، ترمیم DNA، کاهنده استرس، بازسازی سلولی، محافظت‌کننده عصبی، ضد تکثیر، ضد التهاب و ضد آپوپتوز توجه جامعه علمی را به خود جلب کرده است (Chang & Xiong 2020). آستاگزانتین اغلب به عنوان یک آنتی اکسیدان برای درمان بیماری‌های گوش و عروق استفاده می‌شود و دارای اثرات ضد سرطانی در بسیاری از سرطان‌ها از جمله سرطان کبد، روده بزرگ، مثانه، دهان و سرطان خون می‌باشد. در سال‌های اخیر، پژوهشگران تأیید کرده‌اند که آستاگزانتین اثرات بالقوه‌ای بر

اتانول مایعی بی‌رنگ، فرار، قابل اشتعال، با بوی مشخص، ضد عفونی‌کننده و نیز روان‌گردان می‌باشد که ماده اصلی موجود در نوشیدنی‌های الکلی است (Coune et al., 2017). اتانول به طور طبیعی با تخمیر قندها توسط مخمرها یا از طریق فرآیندهای پتروشیمی مانند هیدراتاسیون اتیلن تولید می‌شود و به عنوان ضد عفونی‌کننده کاربردهای پزشکی دارد (Jeong et al., 2012). اتانول تأثیرات مخرب زیادی از جمله زوال حافظه، نقص عملکرد حرکتی و شناختی در مغز دارد که ناشی از تخریب عصبی به دلیل افزایش استرس اکسیداتیو است (Hernández et al., 2016). یکی از اصلی‌ترین تأثیرات اتانول، اختلال در وظایف یادگیری و حافظه وابسته به هیپوکامپ است (Abraham et al., 2017). اتانول اثرات حاد و سریع بر عملکرد پروتئین‌های دخیل در انتقال سیناپسی تحریکی و مهار دارد. اتانول می‌تواند شلیک نورون‌های دوپامین را تقویت کند، اما شلیک نورون‌های گابائترژیک مغز میانی را مهار می‌کند (Deehan et al., 2016). همچنین، گیرنده‌های گلوتامات را در هیپوکامپ، قشر پیشانی و آمیگدال مرکزی مهار می‌کند اما در میان سایر مناطق مغز اثرات حاد اتانول بر آزادسازی گلوتامات متفاوت است (Abraham et al., 2017). مسمومیت ناشی از قرار گرفتن در معرض اتانول مزمن بر بسیاری از اندام‌ها به ویژه در سیستم عصبی (پلی‌نوریت، آتروفی مخچه و اختلالات حافظه) و سیستم قلبی-عروقی تأثیر می‌گذارد (Le Dare et al., 2019).

مصرف اتانول در نوجوانانی که دچار اعتیاد به الکل هستند، حجم دوطرفه هیپوکامپ را کاهش می‌دهد (Squeglia et al., 2014). همچنین گزارش شده است که کاهش تراکم نورون‌های شکنج دندان‌ای که بخشی از تشکیلات هیپوکامپی مرتبط با حافظه و یادگیری است، با طول مدت مصرف اتانول ارتباط دارد و این کاهش، در بالغین موجب اختلال در حافظه و یادگیری و نقص در عملکرد شناختی می‌شود (Vetreno & Crews, 2015). اتانول نقش به‌سزایی در تغییر عملکرد مغز از طریق اثرگذاری بر روی انتقال‌دهنده‌های عصبی دارد. به طور کلی مسیرهای دوپامینرژیک، سروتونرژیک، گابائترژیک و

بیماری‌های مختلف از جمله فشار خون بالا، دیابت، بیماری‌های قلبی-عروقی، گوارشی، کبدی و بیماری‌های پوستی نشان داد (Li et al., 2020).

گزارشات نشان دادند که سمیت الکل به دلیل افزایش رادیکال‌های آزاد و تولید استرس اکسیداتیو است و مصرف الکل، فعالیت آنتی اکسیدان‌ها مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را کاهش می‌دهد و منجر به اختلال شناختی همراه با افزایش استرس اکسیداتیو در نواحی مغز می‌شود (Chen & Hu, 2017; Wu & Cederbaum, 2003). بر اساس نتایج حاصل از مطالعات پیشین، هدف از این پژوهش بررسی اثرات آستاگزانتین بر اختلالات یادگیری و حافظه و آسیب اکسیداتیو القا شده با اتانول در هیپوکامپ موش کوچک آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری دانشکده علوم پایه، ساختمان زیست شناسی، دانشگاه مازندران انجام گرفت. تمامی مراحل بر طبق منشور اخلاق زیستی دانشگاه مازندران با کد اخلاق (IR.UMZ.REC.1401.043) انجام گردید. ۳۵ سر موش کوچک آزمایشگاهی در محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم از پژوهشکده انستیتو پاستور آمل خریداری شدند و در شرایط استاندارد دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و چرخه ۱۲ ساعت نور و تاریکی در اتاق حیوانات دانشکده زیست شناسی نگهداری شدند. آب و غذای مخصوص به میزان کافی در دسترس آن‌ها قرار گرفت. به منظور عادت کردن حیوانات به محیط، آزمایش‌ها یک هفته بعد از انتقال موش‌ها به آزمایشگاه انجام گردید.

طراحی آزمایش

در این پژوهش، موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۷ تایی تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل که هیچ دارویی دریافت نکردند. ۲- گروه کنترل مثبت، دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین را به صورت گاواژ دریافت کردند. ۳- گروه اتانول، که اتانول ۲۰٪ را به صورت گاواژ دریافت کردند. ۴- گروه تیمار با آستاگزانتین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم که ابتدا اتانول ۲۰٪ و ۲ ساعت بعد دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین را به صورت گاواژ

دریافت کردند. ۵- گروه تیمار با آستاگزانتین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم که ابتدا اتانول ۲۰٪ و ۲ ساعت بعد دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین را به صورت گاواژ دریافت کردند. تمام درمان‌ها به مدت ۱۴ روز متوالی و به صورت خوراکی انجام شد (MafyEsmaili et al., 2022; Hwa et al., 2011).

آزمون تشخیص شیء جدید (NORT)

این آزمون یک آزمون رفتاری است که به بررسی جنبه‌های مختلف حافظه و یادگیری در جوندگان می‌پردازد و توانایی آن‌ها را در بررسی یک شیء جدید مورد ارزیابی قرار می‌دهد (Antunes & Biala, 2012). این آزمون طی سه روز و در سه مرحله کامل می‌شود: مرحله عادت: حیوان جهت آشنایی با محیط جدید به مدت ۵ دقیقه درون جعبه خالی قرار داده می‌شود. مرحله آشنایی: ابتدا دو شیء همسان (لیوان سفالی) در دو طرف جعبه قرار داده شد و سپس حیوان به مدت ۵ دقیقه درون محفظه و در وسط دو شیء قرار داده شد تا به کاوش بپردازد. مرحله آزمون حافظه: در این مرحله یکی از اشیای داخل جعبه با یک شیء جدید با خصوصیات ظاهری متفاوت تعویض شد (لیوان سفالی + عروسک) و حیوان دوباره به جعبه بازگردانده شد (Yang et al., 2017).

$$100 \times \frac{\text{زمان لمس شیء جدید}}{\text{زمان لمس شیء جدید} + \text{زمان لمس شیء قدیم}} = \text{شاخص شناسایی}$$

نمونه برداری

یک روز پس از آخرین تیمار، جهت نمونه برداری از ناحیه هیپوکامپ مغز، موش‌ها را بیهوش کرده و بعد از انجام ریپرفیوژن قلبی و قربانی شدند و سپس هیپوکامپ آن‌ها جدا شده و در تانک نیتروژن مایع تثبیت شد. سپس تا زمان انجام سنجش‌های بیوشیمیایی، به فریزر -80 درجه سانتی‌گراد منتقل گردید.

هموزن کردن بافت هیپوکامپ مغز

به منظور هموزن کردن بافت هیپوکامپ مغز، از محلول Tris-HCl (pH=7.4، غلظت ۱۰ نانومولار)، EDTA (۱ میلی‌مولار) و ساکارز (۰/۳۲ مولار) استفاده گردید. ۱۵۰ میلی‌گرم از بافت هیپوکامپ مغز هر موش را در ۱/۵

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش جنت صورت گرفت (Bigdeli et al., 2009). به طور خلاصه مخلوط واکنش، شامل بافر سدیم فسفات با غلظت ۵۰ میلی مولار و pH=۷ بود که حاوی ۰/۰۰۳ گرم پیروگال و ۰/۰۰۱۸ گرم EDTA است. برای سنجش آنزیم، ۶۰ میکرولیتر سوپرناتانت را به ۷۴۰ میکرولیتر مخلوط واکنش اضافه کرده و سپس میزان فعالیت آنزیم بر اساس توانایی آن در مهار اتواکسیداسیون پیروگال به دست آمد. جذب محلول در طول موج ۴۲۰ نانومتر و به مدت ۲ دقیقه خوانده شد.

۴. سنجش سطح مالون دی آلدیید

۲۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت بافت هموزن شده با ۰/۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد و ۱ میلی لیتر تیوباربیتریک اسید ۰/۶۷ درصد مخلوط شد و سپس ۶۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد در حمام آب گرم قرار داده شد. پس از خنک شدن در دمای اتاق، مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و محلول رویی آن برداشته شد و سپس جذب آن در طول موج ۵۳۵ نانومتر خوانده شد. در پایان غلظت مالون دی آلدیید به صورت nmol/mg protein گزارش شد (Esterbauer & Cheeseman, 1990).

آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و در صورت معنی دار شدن از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. تمامی محاسبات و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Graphpad Prism انجام شده و مقادیر ($P < 0.05$) معنادار در نظر گرفته شد. نتایج به صورت Mean \pm SD بیان شدند.

نتایج و یافته‌ها

۱. بررسی اثر تیمار با استاگزانتین بر شاخص تبعیض در آزمون تشخیص شی جدید (NORT)

بر اساس شکل ۱، شاخص تبعیض در گروه‌های اتانول ($P < 0.001$) و تیمار با استاگزانتین ۱۰ mg/kg (۰/۰۵)

سی سی از بافر Tris-HCl هموزن کرده تا مخلوط یکدست شود. سپس بافت هموزن شده ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. پس از اتمام سانتریفوژ، مایع شفاف رویی جمع‌آوری شد.

تعیین غلظت دوپامین

برای سنجش غلظت دوپامین در بافت هیپوکامپ از روش گسوا استفاده شد. ۱ میلی لیتر از سوپرناتانت هیپوکامپ به ۱ میلی لیتر پتاسیم فری سیانید و فریک کلرید اضافه شد و این مخلوط با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شده و به مدت ۳۵ دقیقه در دمای اتاق گذاشته شد. سپس در دستگاه اسپکتوفتومتر با طول موج ۷۳۵ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت. در نهایت، سطح دوپامین هر نمونه به صورت نانوگرم بر میلی گرم پروتئین گزارش شد (Yang et al., 2017).

سنجش فعالیت و سطح شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی مغز

۱. اندازه‌گیری غلظت پروتئین به روش برادفورد

این روش که اولین بار توسط ماریون ام برادفورد معرفی شد، برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین مورد استفاده قرار گرفت (Goc et al., 2017). جذب پروتئین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به صورت نقطه‌ای، در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی پروتئین استاندارد، از آلبومین سرم گاوی به عنوان پروتئین استاندارد استفاده شده است (Mæhre et al., 2018).

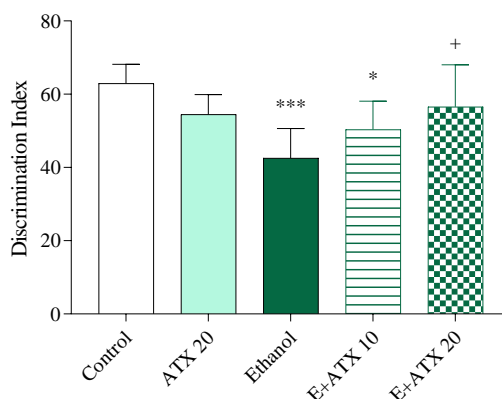
۲. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش ابی استفاده شد (Perera & Yen, 2007). مخلوط واکنش، حاوی بافر سدیم فسفات (pH=۷ و غلظت ۵۰ میلی مولار) و ۱۰ میلی مولار H₂O₂ است که ۶۰ میکرولیتر از سوپرناتانت تهیه شده به ۷۴۰ میکرولیتر از آن اضافه شد. در نهایت جذب نوری محلول در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه خوانده شد.

۳. سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

۲۰ mg/kg افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) را نسبت به گروه اتانول نشان داده است.

$P < 0.05$ نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافته است. در حالی که گروه تیمار با آستاگزانتین

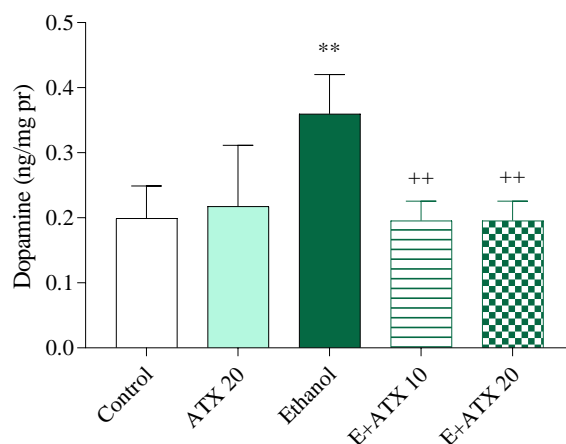


شکل ۱- اثر آستاگزانتین بر شاخص تبعیض در آزمون تشخیص شیء جدید (NORT) ($n=7$, Mean \pm SD) و $P < 0.05$ و $*** P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل. در مقایسه با گروه اتانول. $P < 0.05$ در مقایسه با گروه اتانول. Ethanol=Ethanol group, ATX 20= Positive control group (20 mg/kg astaxanthin), E+ATX 10=Treatment group with 10 mg/kg astaxanthin, E+ATX 20=Treatment group with 20 mg/kg astaxanthin.

Figure 1. Effect of astaxanthin on the discrimination index in NORT ($n=7$, Mean \pm SD). * $P < 0.05$ and *** $P < 0.001$ compared to the control group. + $P < 0.05$ compared to the ethanol group. Ethanol=Ethanol group, ATX 20= Positive control group (20 mg/kg astaxanthin), E+ATX 10=Treatment group with 10 mg/kg astaxanthin, E+ATX 20=Treatment group with 20 mg/kg astaxanthin

۲. بررسی اثر آستاگزانتین بر سطح دوپامین هیپوکامپ

طبق شکل ۲، میزان دوپامین در گروه اتانول به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است ($P < 0.001$). در حالی که سطح دوپامین در گروه‌های تیمار با آستاگزانتین در هر دو دوز به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه اتانول کاهش یافته است ($P < 0.001$).

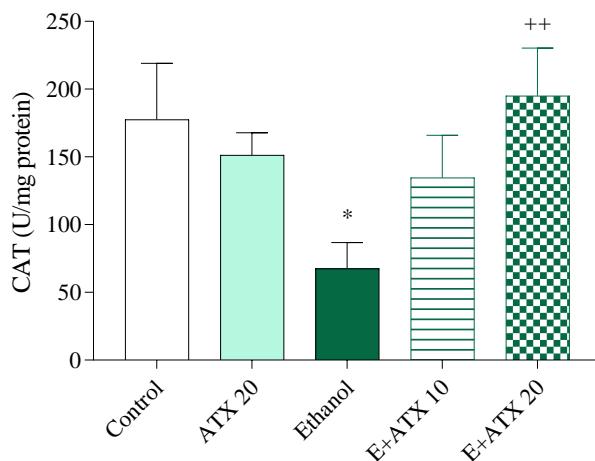


شکل ۲- اثر آستاگزانتین بر سطح دوپامین در ناحیه هیپوکامپ (Mean \pm SD و n=5). $P < 0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل. $P < 0.001$ +++ در مقایسه با گروه اتانول. Ethanol= گروه اتانول، ATX 20= گروه کنترل مثبت (آستاگزانتین 20 mg/kg)، E+ATX 10= گروه تیمار با آستاگزانتین 10 mg/kg، E+ATX 20= گروه تیمار با آستاگزانتین 20 mg/kg.

Figure 2. Effect of astaxanthin on dopamine level in the hippocampal area (n=7, Mean \pm SD). $*** P < 0.001$ compared to the control group. $+++ P < 0.001$ compared to the ethanol group. Ethanol=Ethanol group, ATX 20= Positive control group (20 mg/kg astaxanthin), E+ATX 10=Treatment group with 10 mg/kg astaxanthin, E+ATX 20=Treatment group with 20 mg/kg astaxanthin.

۳. بررسی اثر آستاگزانتین بر فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت هیپوکامپ

مطابق شکل ۳، فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه‌های اتانول و تیمار با آستاگزانتین 10 mg/kg به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل به ترتیب با ($P < 0.001$) و ($P < 0.01$) کاهش یافت. در حالی که فعالیت این آنزیم در گروه تیمار با آستاگزانتین 10 mg/kg و 20 mg/kg به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه اتانول به ترتیب با ($P < 0.01$) و ($P < 0.001$) افزایش یافته است. همچنین میزان افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه تیمار با آستاگزانتین 20 mg/kg نسبت به گروه تیمار با آستاگزانتین 10 mg/kg معنی‌دار بود. ($P < 0.05$)



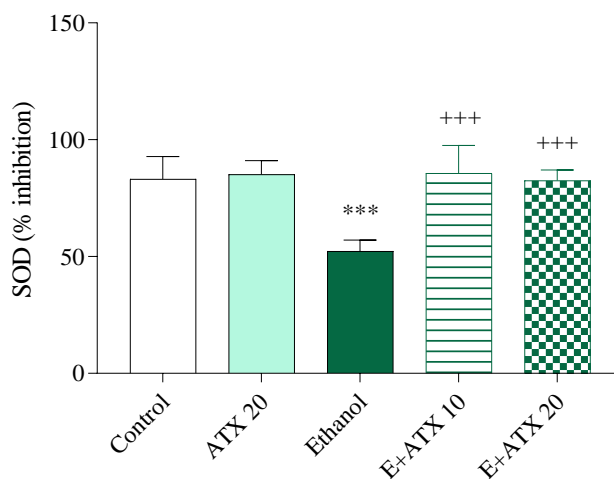
شکل ۳- اثر آستاگزانتین بر فعالیت آنزیم کاتالاز در ناحیه هیپوکامپ (Mean \pm SD و n=5). $P < 0.01$ و $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل. $P < 0.01$ و $P < 0.001$ در مقایسه با گروه اتانول. $P < 0.05$ در مقایسه با گروه تیمار با آستاگزانتین ۱۰ mg/kg. Ethanol= گروه اتانول، ATX 20= گروه کنترل مثبت (آستاگزانتین ۲۰ mg/kg)، E+ATX 10= گروه تیمار با آستاگزانتین ۱۰ mg/kg، E+ATX 20= گروه تیمار با آستاگزانتین ۲۰ mg/kg.

Figure 3. Effect of astaxanthin on catalase activity in the hippocampus area (n=5, Mean \pm SD). $** P < 0.01$ and $*** P < 0.001$ compared to the control group. $++ P < 0.01$ and $+++ P < 0.001$ compared to the ethanol group. $\# P < 0.05$ compared to the treatment group with 10 mg/kg of astaxanthin. Ethanol= Ethanol group, ATX 20= Positive control group (astaxanthin 20 mg/kg), E+ATX 10= Treatment group with astaxanthin 10 mg/kg, E+ATX 20= Treatment group with astaxanthin 20 mg/kg.

دیسموتاز در گروه اتانول به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است ($P < 0.001$). در حالی که فعالیت این آنزیم در گروه‌های تیمار با آستاگزانتین در هر دو دوز به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه اتانول افزایش یافته است ($P < 0.001$).

۴. بررسی اثر آستاگزانتین بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در هیپوکامپ

شکل ۴، بیانگر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ناحیه هیپوکامپ است. فعالیت آنزیم سوپراکسید

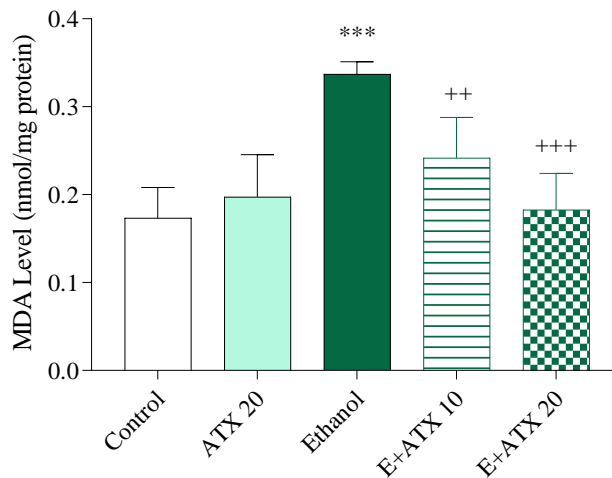


شکل ۴- اثر آستاگزانتین بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ناحیه هیپوکامپ. (Mean \pm SD و n=5). $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل. $P < 0.001$ در مقایسه با گروه اتانول. Ethanol= گروه اتانول، ATX 20= گروه کنترل مثبت (آستاگزانتین 20 mg/kg)، E+ATX 20= گروه تیمار با آستاگزانتین 20 mg/kg، E+ATX 10= گروه تیمار با آستاگزانتین 10 mg/kg، E+ATX 20= گروه تیمار با آستاگزانتین 20 mg/kg.

Figure 4. Effect of astaxanthin on the activity of superoxide dismutase in the hippocampus. (n = 5, Mean \pm SD), *** $P < 0.001$ compared to the control group. +++ $P < 0.001$ compared to the ethanol group. Ethanol= Ethanol group, ATX 20= Positive control group (20 mg/kg astaxanthin), E+ATX 10= Treatment group with 10 mg/kg astaxanthin, E+ATX 20= Treatment group with 20 mg/kg astaxanthin.

۵. بررسی اثر آستاگزانتین بر سطح مالون دی آلدئید در هیپوکامپ

شکل ۵، نشانگر سطح MDA هیپوکامپ می باشد. سطح مالون دی آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید در ناحیه هیپوکامپ گروه اتانول به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته است ($P < 0.001$). در حالی که سطح مالون دی آلدئید در گروه تیمار با آستاگزانتین 10 mg/kg ($P < 0.001$) و گروه تیمار با آستاگزانتین 20 mg/kg ($P < 0.001$) در مقایسه با گروه اتانول به طور معنی داری کاهش یافته است.



نمودار ۵- اثر آستاگزانتین بر سطح مالون‌دی‌آلدهید در هیپوکامپ (Mean \pm SD و n=5). $P < 0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل. $P < 0.001$ +++ و $P < 0.01$ ++ در مقایسه با گروه اتانول. Ethanol= گروه اتانول، ATX 20= گروه کنترل مثبت (آستاگزانتین 20 mg/kg)، E+ATX 10= گروه تیمار با آستاگزانتین 10 mg/kg، E+ATX 20= گروه تیمار با آستاگزانتین 20 mg/kg.

Figure 5. The effect of astaxanthin on the malondialdehyde level in the hippocampus (n=5, Mean \pm SD). $*** P < 0.001$ compared to the control group. $++ P < 0.01$, and $+++ P < 0.001$ compared to the ethanol group. Ethanol= Ethanol group, ATX 20=Positive control group (20 mg/kg astaxanthin), E+ATX 10=Treatment group with 10 mg/kg astaxanthin, E+ATX 20=Treatment group with 20 mg/kg astaxanthin.

بحث

در پژوهش حاضر، بررسی‌های رفتاری و بیوشیمیایی نشان دادند که تیمار با آستاگزانتین در دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موجب بهبود اختلالات حافظه و یادگیری، لیپید پراکسیداسیون، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سطح دوپامین در موش‌های القا شده با اتانول می‌شود.

مطالعات نشان داده‌اند که مصرف بیش از حد و مزمن اتانول معمولاً منجر به آسیب ساختاری و عملکردی در مغز انسان، به ویژه مناطقی که مسئول یادگیری و حافظه هستند، می‌شود. مطالعات اپیدمیولوژیک انسانی نشان داده است اغلب افرادی که تحت تاثیر اتانول و نوشیدنی‌های الکلی هستند، از نقایص شناختی از جمله اختلالات قابل توجه در یادگیری و حافظه رنج می‌برند (Vetreno & Crews, 2015). آسیب‌های عصبی ناشی از مصرف اتانول منجر به انواع مختلفی از مشکلات رفتاری از جمله بیش‌فعالی، کمبود توجه، اختلال عملکرد حرکتی، اختلال در مهارت‌های زبانی و اجتماعی و اختلال یادگیری می‌شود. به

طور کلی یکی از اصلی‌ترین اثرات شناختی اتانول، اختلال در یادگیری و حافظه است. اتانول یادگیری و حافظه وابسته به هیپوکامپ را مختل می‌کند (Abraham et al., 2017). در مطالعه حاضر، برای ایجاد مدل اتانولی و بررسی تاثیرات اتانول بر حافظه و یادگیری و همچنین آسیب اکسیداتیو در ناحیه هیپوکامپ، به صورت روزانه ۰/۱ میلی‌لیتر از اتانول ۲۰٪ به صورت گاواژ به موش‌های گروه اتانول و دو گروه تیمار به مدت ۱۴ روز متوالی داده شد. در این مطالعه، برای اندازه‌گیری حافظه و یادگیری حیوانات از تست NORT استفاده شد و بر اساس تحلیل آماری مشخص شد که اتانول موجب کاهش قدرت تمایز و تشخیص نیز گردید. همچنین آنالیزهای بیوشیمیایی نشان داد که مصرف اتانول موجب افزایش سطح DA و کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT شد. همچنین سطح MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در ناحیه هیپوکامپ افزایش یافت.

در این راستا مطالعات نشان داد موش‌هایی که در معرض یک چرخه الگوی مصرف الکل قرار گرفته‌اند، هم در حافظه و هم در

دوز ۲۰ در مقایسه با گروه دریافت کننده اتانول به طور معنی داری کاهش یافته است.

ATX یک رنگدانه کاروتنوئیدی بدون فعالیت پروویتامین A در انسان است و یکی از گران ترین و مهم ترین رنگدانه های صنعتی است که مسئول رنگ صورتی و قرمز در گوشت ماهی قزل آلا و میگو است. ATX طبیعی به دلیل دارا بودن قوی ترین خواص آنتی اکسیدانی در بین کاروتنوئیدها و همچنین سایر فواید سلامتی در مواد غذایی و آرایشی و بهداشتی، از آن در برخی کشورها گاهی برای غنی ساختن غذاها و نوشیدنی ها استفاده می کنند (Stachowiak & Szulc, 2021).

ATX می تواند با تقویت نوروزنرژ، عملکرد رفتاری وابسته به هیپوکامپ را بهبود بخشد. همچنین درمان با ATX باعث افزایش فعالیت CAT و SOD و GSH و کاهش سطوح MDA و DA می شود (Grimmig et al., 2017). مطالعات نشان داد، اثرات مخرب و آنتاگونیستی الکل را برمی گرداند. همچنین اثرات محافظت عصبی ATX در آسیب های CNS به خاصیت آنتی اکسیدانی قوی آن از طریق کاهش MDA و افزایش CAT و SOD نسبت داده شد. ATX سطوح همه انواع شاخص های اکسیداتیو مانند MDA و DA را در شش ناحیه مغز از جمله هیپوکامپ بهبود می بخشد. (Fakhri et al., 2019).

اثرات مثبتی بر کاهش آپوپتوز سلولی از طریق افزایش فعالیت آنزیم هایی مانند SOD, CAT, GPX و بهبود آسیب اکسیداتیو دارد. درمان با ATX به طور قابل توجهی آسیب های زیرساختی را کاهش می دهد (Fang et al., 2017). آنتی اکسیدان ATX، در موش هایی که دچار اختلال حافظه و یادگیری و آسیب عصبی ناشی از استرس اکسیداتیو بودند، دارای یک اثر محافظتی عصبی بود که به طور قابل توجهی نقص های شناختی و غلظت MDA را کاهش و فعالیت CAT و SOD را افزایش داد (Fan et al., 2015).

نتیجه گیری

در مطالعه حاضر به بررسی اثرات محافظتی آستاگزانتین بر شاخص های رفتاری و وضعیت آنتی اکسیدانی در بافت هیپوکامپ مغز در موش های مدل اتانولی پرداخته شد. نتایج حاصل از داده های رفتاری موش های تیمار شده با آستاگزانتین، نشان دهنده بهبود در جنبه های مختلف حافظه و یادگیری در موش های بیمار ناشی از اتانول می باشد. همچنین نتایج حاصل از شاخص های آنتی اکسیدانی در هیپوکامپ حاکی از آن است که

عملکرد تشخیص شیء جدید اختلالات قابل توجهی دارند (Zhao et al., 2013). همچنین قرار گرفتن در معرض بیش از حد و متناوب اتانول در دوران نوجوانی بدون توجه به میزان الکل تجویز شده، فرآیندهای حافظه فضایی را در بزرگسالی مختل می کند (Contreras et al., 2019). مصرف اتانول در بالغین موجب اختلال در حافظه و یادگیری می شود که این مشکل عصبی می تواند ناشی از کاهش تولید نورون در ناحیه DG هیپوکامپ باشد (Xing & Zou, 2018).

اتانول اثر مخرب خود بر روی حافظه را با اثر بر روی ناقل های عصبی مختلف بویژه استیل کولین، GABA و DA اعمال می نماید. اتانول رهاش استیل کولین در هیپوکامپ و قشر مخ را کاهش می دهد. همچنین مصرف اتانول در کوتاه مدت باعث تقویت پیام های دوپامینرژیک و تضعیف پیام های گابائریژیک به ویژه در هیپوکامپ می شود. بنابراین اتانول به واسطه اثر بر روی سیستم های دوپامینرژیک و گابائریژیک باعث اختلال در شناخت و تخریب حافظه می گردد (Hajizadeh et al., 2014).

مصرف بیش از حد و مزمن الکل، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند SOD و CAT را کاهش می دهد و منجر به اختلال شناختی همراه با افزایش استرس اکسیداتیو و التهاب در نواحی مغز می شود. حجم مغز در جوانان مصرف کننده الکل در چندین ناحیه مهم از جمله هیپوکامپ و قشر جلوی مغز در مقایسه با جوانان غیرمصرف کننده الکل کاهش می یابد (Chen & Hu, 2017). سمیت الکل به دلیل افزایش رادیکال های آزاد و تولید استرس اکسیداتیو است. الکل تولید ROS را تقویت می کند و با مکانیسم های دفاعی طبیعی بدن در برابر این ترکیبات از طریق فرآیندهای متعدد به ویژه در کبد، تداخل می کند و همچنین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله CAT و SOD را کاهش می دهد (Wu & Cederbaum, 2003). پس از تحلیل داده های آماری بدست آمده از این مطالعه، تاثیر مثبت ATX در بهبود اثرات مخرب اتانول با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاملاً مشهود است و این اثرات تا حد زیادی وابسته به دوز بود. یعنی بیشترین اثرات در دوز ۲۰ مشاهده شد. به طوری که پس از مصرف ATX فعالیت SOD و CAT گروه های تیمار نسبت به گروه اتانول و همچنین شاخص تبعیض در تست NORT نسبت به گروه اتانول افزایش یافت. در حالی که سطح DA در گروه دریافت کننده ATX در هر دو دوز به طور معنی داری در مقایسه با گروه دریافت کننده اتانول کاهش یافته است. سطح MDA نیز در گروه دریافت کننده ATX با

سپاسگزاری

این پژوهش بخشی از پایان‌نامه‌ی دانشجوی کارشناسی ارشد بوده است. از حمایت‌های مادی معاونت محترم علمی پژوهشی دانشگاه مازندران صمیمانه سپاسگزاریم.

تیمار با آستاگزانتین موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT و نیز کاهش سطوح MDA و DA می‌گردد. این اثرات تا حد زیادی وابسته به دوز بود، یعنی بیشترین اثرات در دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان‌دهنده توانایی آستاگزانتین در بهبود اختلالات یادگیری و حافظه و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی است که می‌توان با تهیه آن به صورت مکمل غذایی و دارویی از آن به عنوان دارویی مناسب جهت بهبود اختلالات نام برده استفاده کرد.

REFERENCES

- Abraham, K. P., Salinas, A. G., & Lovinger, D. M.** (2017). Alcohol and the brain: neuronal molecular targets, synapses, and circuits. *Neuron*, 96(6), 1223-1238. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.10.032>
- Antunes, M., & Biala, G.** (2012). The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cognitive processing*, 13, 93-110. <https://doi.org/10.1007/s10339-011-0430-z>
- Banerjee, N.** (2014). Neurotransmitters in alcoholism: A review of neurobiological and genetic studies. *Indian journal of human genetics*, 20(1), 20. <https://doi.org/10.4103%2F0971-6866.132750>
- Bigdeli, M. R., Rasouljan, B., & Meratan, A. A.** (2009). In vivo normobaric hyperoxia preconditioning induces different degrees of antioxidant enzymes activities in rat brain tissue. *European Journal of Pharmacology*, 611(1-3), 22-29. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.03.034>
- Chang, M. X., & Xiong, F.** (2020). Astaxanthin and its effects in inflammatory responses and inflammation-associated diseases: recent advances and future directions. *Molecules*, 25(22), 5342. <https://doi.org/10.3390/molecules25225342>
- Chen, Q., & Hu, P.** (2017). Proanthocyanidins prevent ethanol-induced cognitive impairment by suppressing oxidative and inflammatory stress in adult rat brain. *Neuroreport*, 28(15), 980-986. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000000867>
- Contreras, A., Morales, L., & Del Olmo, N.** (2019). The intermittent administration of ethanol during the juvenile period produces changes in the expression of hippocampal genes and proteins and deterioration of spatial memory. *Behavioural Brain Research*, 372, 112033. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112033>
- Coune, F., Silvestre de Ferron, B., González-Marín, M. C., Antol, J., Naassila, M., & Pierrefiche, O.** (2017). Resistance to ethanol sensitization is associated with a loss of synaptic plasticity in the hippocampus. *Synapse*, 71(2), e21899. <https://doi.org/10.1002/syn.21899>
- Deehan Jr, G. A., Knight, C. P., Waeiss, R. A., Engleman, E. A., Toalston, J. E., McBride, W. J., ... & Rodd, Z. A.** (2016). Peripheral administration of ethanol results in a correlated increase in dopamine and serotonin within the posterior ventral tegmental area. *Alcohol and Alcoholism*, 51(5), 535-540. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agw037>
- Ekpe, L., Inaku, K., & Ekpe, V.** (2018). Antioxidant effects of astaxanthin in various diseases—A review. *J. Mol. Pathophysiol*, 7(1), 1-6. <https://doi.org/10.5455/jmp.20180627120817>
- Esterbauer, H., & Cheeseman, K. H.** (1990). [42] Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In *Methods in enzymology* (Vol. 186, pp. 407-421). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86134-H](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86134-H)
- Fakhri, S., Yosifova Aneva, I., Farzaei, M. H., & Sobarzo-Sánchez, E.** (2019). The neuroprotective effects of astaxanthin: therapeutic targets and clinical perspective. *Molecules*, 24(14), 2640. <https://doi.org/10.3390/molecules24142640>
- Fan, M., Song, C., Wang, T., Li, L., Dong, Y., Jin, W., & Lu, P.** (2015). Protective effects of lithium chloride treatment on repeated cerebral ischemia-reperfusion injury in mice. *Neurological Sciences*, 36, 315-321. <https://doi.org/10.1007/s10072-014-1943-x>
- Fang, Q., Guo, S., Zhou, H., Han, R., Wu, P., & Han, C.** (2017). Astaxanthin protects against early burn-wound progression in rats by attenuating oxidative stress-induced inflammation and mitochondria-related apoptosis. *Scientific reports*, 7(1), 41440. <https://doi.org/10.1038/srep41440>
- Goc, Z., Szaroma, W., Kapusta, E., & Dziubek, K.** (2017). Protective effects of melatonin on the activity of SOD, CAT, GSH-Px and GSH content in organs of mice after administration of SNP. *Chin J Physiol*, 60(1), 1-10. <https://doi.org/10.4077/cjp.2017.baf435>
- Grimmig, B., Kim, S. H., Nash, K., Bickford, P. C., & Douglas Shytle, R.** (2017). Neuroprotective mechanisms of astaxanthin: a potential therapeutic role in preserving cognitive function in age and neurodegeneration. *Geroscience*, 39, 19-32. <https://doi.org/10.1007/s11357-017-9958-x>

- Hajizadeh, E., Khezri, S., & Piri, M.** (2014). influence of ethanol on amnesia and state-dependent learning induced by scopolamine in male mouse. *journal of animal biology*, 6(4), 1-11. sid. <https://sid.ir/paper/176951/en>
- Hernández, J. A., López-Sánchez, R. C., & Rendón-Ramírez, A.** (2016). Lipids and oxidative stress associated with ethanol-induced neurological damage. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/1543809>
<https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2011.01545.x>
- Hwa, L. S., Chu, A., Levinson, S. A., Kayyali, T. M., DeBold, J. F., & Miczek, K. A.** (2011). Persistent escalation of alcohol drinking in C57BL/6J mice with intermittent access to 20% ethanol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 35(11), 1938-1947.
- Jeong, J. S., Jeon, H., Ko, K. M., Chung, B., & Choi, G. W.** (2012). Production of anhydrous ethanol using various PSA (Pressure Swing Adsorption) processes in pilot plant. *Renewable Energy*, 42, 41-45. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.09.027>
- Le Dare, B., Lagente, V., & Gicquel, T.** (2019). Ethanol and its metabolites: update on toxicity, benefits, and focus on immunomodulatory effects. *Drug metabolism reviews*, 51(4), 545-561. <https://doi.org/10.1080/03602532.2019.1679169>
- Li, J., Guo, C., & Wu, J.** (2020). Astaxanthin in liver health and disease: a potential therapeutic agent. *Drug design, development and therapy*, 2275-2285. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S230749>
- Mæhre, H. K., Dalheim, L., Edvinsen, G. K., Elvevoll, E. O., & Jensen, I. J.** (2018). Protein determination—method matters. *Foods*, 7(1), 5. <https://doi.org/10.3390/foods7010005>
- mafyaEsmaili, M., khosravi, M., Esmaili, M. H., Bananej, M., & Solati, J.** (2022). In-vitro and in-vivo evaluation of the anti-Parkinson activity of Astaxanthin. *medical journal of mashhad university of medical sciences*, 65(3), 1387-1400. (In Persian). doi: 10.22038/mjms.2022.65697.3865
- Manabe, Y., Komatsu, T., Seki, S., & Sugawara, T.** (2018). Dietary astaxanthin can accumulate in the brain of rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 82(8), 1433-1436. <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1459467>
- Perera, C. O., & Yen, G. M.** (2007). Functional properties of carotenoids in human health. *International Journal of Food Properties*, 10(2), 201-230. <https://doi.org/10.1080/10942910601045271>
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I.** (2021). Oxidative stress mitigation by antioxidants-an overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112891. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112891>
- Squeglia, L. M., Jacobus, J., & Tapert, S. F.** (2014). The effect of alcohol use on human adolescent brain structures and systems. *Handbook of clinical neurology*, 125, 501-510. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62619-6.00028-8>
- Stachowiak, B., & Szulc, P.** (2021). Astaxanthin for the food industry. *Molecules*, 26(9), 2666. <https://doi.org/10.3390/molecules26092666>
- Vetreno, R. P., & Crews, F. T.** (2015). Binge ethanol exposure during adolescence leads to a persistent loss of neurogenesis in the dorsal and ventral hippocampus that is associated with impaired adult cognitive functioning. *Frontiers in neuroscience*, 9, 35. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00035>
- Vetreno, R. P., & Crews, F. T.** (2015). Binge ethanol exposure during adolescence leads to a persistent loss of neurogenesis in the dorsal and ventral hippocampus that is associated with impaired adult cognitive functioning. *Frontiers in neuroscience*, 9, 35. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00035>
- Wu, D., & Cederbaum, A. I.** (2003). Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol research & health*, 27(4), 277. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6668865/>
- Xing, Y., & Zou, D.** (2018). Ethanol-induced cognitive dysfunction is associated with alterations in the mammalian target of rapamycin signalling pathway in the hippocampus of male mice. *Neuroreport*, 29(14), 1230-1237. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001104>
- Yang, K., Broussard, J. I., Levine, A. T., Jenson, D., Arenkiel, B. R., & Dani, J. A.** (2017). Dopamine receptor activity participates in hippocampal synaptic plasticity associated with novel object recognition. *European Journal of Neuroscience*, 45(1), 138-146. <https://doi.org/10.1111/ejn.13406>
- Zhao, Y. N., Wang, F., Fan, Y. X., Ping, G. F., Yang, J. Y., & Wu, C. F.** (2013). Activated microglia are implicated in cognitive deficits, neuronal death, and successful recovery following intermittent ethanol exposure. *Behavioural brain research*, 236, 270-282. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.08.052>

How to cite this article:

Hajizadeh Moghaddam.A, Samei1.F, Khanjani Jelodar.S Malekzadeh Estalkhi.F. 2024. Effects of Astaxanthin on Learning and Memory Disorders and Oxidative Damage Induced by Ethanol in the Hippocampal Area in Mice. Nova Biologica Reperta 11: 29-31. (In Persian).

حاجی‌زاده مقدم، الف، سامعی، ف، خانجانی جلودار، خ، ملک‌زاده اسطلخی، ف. ۱۴۰۳. اثرات آستاگزانتین بر اختلالات یادگیری و حافظه و آسیب اکسیداتیو القا شده با اتانول در ناحیه هیپوکامپ موش کوچک آزمایشگاهی ۱۱: ۱۹-۳۱.