

اثر درمانی پروبیوتیک باسیلوس کواکولانس بر موش صحرایی نر پارکینسونی شده

سیمین دخت میرزاناینی^۱، بهاره پاکپور^{۱*}، مجید نواییان^۲^۱ گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران^۲ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۱۹

چکیده

بیماری پارکینسون پس از آلزایمر شایع ترین بیماری نورودژنراتیو است. این بیماری دومین اختلال شایع تخریب نورنی است. جهت ایجاد مدل حیوانی بیماری پارکینسون، بخش متراکم جسم سیاه در موش های صحرایی با تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین (OHDA-6) به طوریک طرفه در دستگاه استرئوتکس تخریب شد. پس از ۳ هفته به منظور ارزیابی میزان تخریب، موشهای صحرایی به صورت درون صفاقی آپومورفین دریافت کردند. تعداد چرخش های حاصل به مدت یک ساعت پس از تزریق شمرده شد. این چرخش ها پارامتر اصلی برای تشخیص بیماری پارکینسون در موش های صحرایی بود. پس از آن حیوانات به مدت یک ماه تحت تیمار پروبیوتیک قرار گرفتند. و سپس یکبار دیگر تست چرخشی آپومورفین انجام شد و نتیجه با سری قبل مقایسه شد. در گروه پارکینسونی که پروبیوتیک دریافت کردند تعداد چرخش های حاصل از تزریق آپومورفین در مقایسه با گروه پارکینسونی که پروبیوتیک دریافت نکرده بودند به صورت معناداری کاهش پیدا کرد ($p \leq 0.001$). علاوه بر این گروه پارکینسونی در مقایسه با گروه شم چرخش های بیشتری از خود نشان دادند. این نتایج نشان داد که از یک طرف نوروتوکسین ۶-هیدروکسی دوپامین می تواند در موش های صحرایی ایجاد پارکینسون کند که اثرات آن با تزریق آگونیست دوپامین به صورت چرخش بروز می کند. از سوی دیگر پروبیوتیک می تواند تعداد چرخش ها را کاهش دهد و در بهبودی آن نقش مؤثری داشته باشد. یکی از عوامل اصلی بروز بیماری پارکینسون عدم تعادل بین آنتی اکسیدان ها و رادیکال های آزاد می باشد. استفاده از پروبیوتیک ها باعث افزایش آنتی اکسیدان ها و کاهش رادیکال های آزاد می شود. بسیاری از مطالعات نقش تحرکی گیرنده دوپامین را در اختلالات عصبی مثل پارکینسون نشان داده اند. با توجه به دست آمده از این مطالعه احتمالاً پروبیوتیک باسیلوس کواکولانس با افزایش میزان بیان دوپامین منجر به بهبود اختلالات عصبی و درمان بیماری پارکینسون در رت ها شد. جسم سیاه جایگاه اصلی ترشح دوپامین است که در کنترل حرکات ارادی و هماهنگی در وضعیت عضلانی اسکلتی نقش مؤثری ایفا می کند. با توجه به این که در این مطالعه ۶-هیدروکسی دوپامین تخریب کننده این ناحیه از مغز بود، غلظت دوپامین را کاهش داد و پارکینسون ایجاد نمود. پروبیوتیک ممکن است از طریق جبران میزان غلظت دوپامین در مراکز دیگری از سیستم عصبی مرکزی باعث بهبودی این بیماری شود.

واژگان کلیدی: باسیلوس کواکولانس، پارکینسون، پروبیوتیک، درمان، موش های صحرایی

* b_pakpour@yahoo.com

مقدمه

بیماری پارکینسون (PD) یک اختلال مزمن پیشرونده و تخریب کننده‌ی عصبی است که باعث ایجاد اختلالات حرکتی می‌گردد. این بیماری دومین اختلال شایع تخریب نورونی است که منجر به ایجاد اختلالات حرکتی شدید مانند لرزش در حال استراحت، سفتی یا افزایش مقاومت در برابر حرکات غیر فعال، بی‌ثباتی وضعیتی و کندی حرکات ارادی می‌شود (۱). در این بیماری کاهش نورون‌های جسم سیاه از یک الگوی ویژه با حساسیت بیشتر در ناحیه شکمی جسم سیاه پیروی می‌کند. در اثر این بیماری ۵۰ تا ۷۰ درصد نورون‌های دوپامینرژیک این ناحیه تخریب می‌شوند و تعادل نوروترانسمیترهای دوپامین و استیل کولین در استریاتوم به هم می‌خورد. این پدیده ناشی از تخریب سلول‌های عصبی نیگرو استریاتال و کاهش تولید و آزاد شدن دوپامین در استریاتوم است که اختلالات حرکتی مختلفی را به وجود می‌آورد (۲). این بیماری با علائمی چون سفتی عضلات، کندی حرکات، لرزش در حال سکون و بی‌ثباتی وضعیتی شناخته می‌شود. پارکینسون می‌تواند در سطح وسیعی بر زندگی بیماران تأثیر بگذارد (۳). پروبیوتیک‌ها به کربوهیدرات‌های غیر قابل هضمی اطلاق می‌شود که به وسیله فعالیت یا محدود کردن برخی گونه‌های پاتوژن باکتریایی باعث رشد باکتری‌های مفید می‌گردد. علاوه بر این، افزودنی مذکور سبب تحریک سیستم ایمنی و ترشح آنزیم‌های هضمی از معده، پانکراس و موکوس روده، افزایش هضم و جذب مواد مغذی می‌شوند (۴). این میکروارگانیسم‌ها اگر به میزان مناسب مصرف شوند، نتایج مفیدی برای سلامت میزبان در پی خواهند داشت. این میکروارگانیسم‌ها در دامنه وسیعی از بیماری‌ها مانند عفونت‌ها، آلرژی‌ها و بیماری‌های التهابی استفاده می‌شوند که به منظور بهبود اثر آن‌ها ترکیبی از گونه‌های مختلف باکتریایی می‌تواند مصرف شود (۵). از بین اسپور فرم‌ها، باسیلوس‌ها می‌توانند بهترین نقش پروبیوتیکی را ایفا کنند. از مزایای باسیل‌های پروبیوتیک می‌توان به قابلیت نگهداری در دمای اتاق، زنده ماندن در طیف

گسترده‌ای از pH و شرایط مختلف محیطی، نگهداری طولانی، حمل و نقل آسان، تولید آنزیم‌های مؤثر در هضم و جذب و کارکرد علیه پاتوژن‌ها اشاره کرد (۶). باسیلوس کوآگولانس^۱ از باسیل‌های پروبیوتیک موجود می‌باشد که نسبت به شرایط سخت فیزیکی و شیمیایی مقاومت دارد (۷). در بیماری پارکینسون کاهش نورون‌های جسم سیاه از یک الگوی ویژه با حساسیت بیشتر در ناحیه شکمی جسم سیاه پیروی می‌کند. در اثر این بیماری ۵۰ تا ۷۰ درصد نورون‌های دوپامینرژیک این ناحیه تخریب می‌شوند و تعادل نوروترانسمیترهای دوپامین و استیل کولین در استریاتوم به هم می‌خورد. این پدیده ناشی از تخریب سلول‌های عصبی نیگرو استریاتال و کاهش تولید و آزاد شدن دوپامین در استریاتوم است که اختلالات حرکتی مختلفی را به وجود می‌آورد (۸). دوپامین یکی از مهم‌ترین نوروترانسمیترهای مغزی می‌باشد که نقش‌های بسیار مهمی در مدارهای پاداشی مغز، کنترل حرکت، انگیزش و ادراک ایفا می‌کند. نورون‌های دوپامینرژیک در نواحی مختلفی از مغز شناسایی شده‌اند که مهم‌ترین آن‌ها مسیر نیاگرا استریاتوم، مزولیمبیک و مزوکورتیکال می‌باشد (۹). مهم‌ترین عامل پاتوفیزیولوژیک بیماری پارکینسون مرگ نورون‌های دوپامینرژیک در بخش متراکم هسته جسم سیاه و کاهش متعاقب دوپامین در استریاتوم می‌باشد. در این زمینه مطالعات رایبسون^۲ و همکاران نشان می‌دهد که بیماری پارکینسون به علت کاهش تولید دوپامین در اثر آسیب به نورون‌های دوپامینرژیک در مسیر نیاگرا استریاتوم ایجاد می‌شود. بر طبق این پژوهش، دوپامین از انتهای آکسون نورون‌هایی که جسم سلولی آن‌ها در هسته سیاه قرار دارد و به درون اجسام مخطط در عقده‌های قاعده‌ای مغز آزاد می‌شود و آسیب نورون‌های دوپامینرژیک باعث این بیماری می‌شود (۱۰). مطالعات حیوانی نیز در مورد گیرنده‌ی دوپامینی D1 و D2 نشان داده‌اند که بیان آن در قشر پیشانی به طور قابل توجهی کاهش یافته است. این کاهش با تأثیر بر مسیر cAMP ایجاد می‌شود (۱۱).

² Rabinson¹ *Bacillus coagulance*

پاستور ایران تهیه می‌شد استفاده گردید. حیوانات بعد از انتقال به حیوان خانه تحقیقاتی در قفس‌های پنج تایی با دوره شبانه روزی طبیعی (۱۲ h روشنایی و ۱۲ h تاریکی) و در دمای $22 \pm 3^\circ\text{C}$ با آب و غذای کافی نگهداری شدند و هر سه روز یکبار قفس موش‌ها تمیز می‌شد. به مدت سه هفته به موش‌ها اجازه داده می‌شود که خود را با شرایط حیوان خانه قبل از جراحی وفق بدهند و در این مدت وزن موش‌ها به اندازه‌ی مورد نظر یعنی بین ۲۵۰-۲۲۰ g رسیدند در طول سه هفته هرروز با حیوانات کار می‌شد تا در موقع آزمایش استرس ناشی از گرفتن و کار با آن‌ها وجود نداشته باشد، هر حیوان فقط یکبار استفاده می‌شد، در هر گروه ده حیوان قرار داده شد و تمام آزمایش‌ها در طول روز انجام می‌شدند.

داروها

طرز تهیه محلول‌های دارویی

همه داروهای مصرفی درسالیین حل شدند و بعد از حل شدن، دور از نور و در ظرف‌های مخصوص، درون فریزر (دمای حدود -20°C) نگهداری می‌شدند. بالاترین و غلیظ‌ترین دوز به‌عنوان دوز مادر تهیه و دوزهای رقیق‌تر از آن ساخته شدند. داروهای ۶-هیدروکس دوپامین و آپومورفین ساخت شرکت سیگما آمریکایی می‌باشند و پروبیوتیک باسیلوس کواکولانس تهیه‌شده از شرکت تک ژن با کد ثبت شده T4_10793 می‌باشد.

جراحی استریوتاکیسی و تزریق ۶-هیدروکسی

دوپامین برای ایجاد مدل پارکینسونی

موش‌های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلراید (100 mg/kg) (شرکت آلفاسان) به‌علاوه زایلزین (10 mg/kg) (شرکت آلفاسان) بی‌هوش شدند. برای جلوگیری از سفتی عضلات در هنگام بیهوشی زایلزین با کتامین به ترتیب با نسبت ۲ به ۸ قبل از تزریق مخلوط شدند. بعد از بیهوشی حیوان، موهای روی سر از فاصله‌ی بین دو چشم تا دو تا گوش چیده شده و حیوان در دستگاه استریوتاکیسی قرار می‌گرفت (در این وضعیت میله‌های

بسیاری از پژوهش‌ها نشان داده‌اند که بعضی از ترکیبات غذایی در سلامتی مغز افراد مؤثرند و مطالعات فراوانی این را در طی سال‌های گذشته اثبات کرده‌اند.

صدها گونه باکتریایی در دستگاه گوارش انسان زیست دارند که می‌توانند بر فیزیولوژی و سلامت موجود مؤثر باشند. تحقیقات کنونی نشان می‌دهد که این باکتری‌ها حتی می‌توانند بر روی مغز نیز تأثیر بگذارند و شیمی مغز را تغییر داده و سبب حالت و رفتار شوند. مدارک روزافزونی دال بر وجود میان کنش بین میکروبیوتای روده، روده و سیستم عصبی مرکزی (CNS) وجود دارد که تحت عنوان محور میکروبیوم-روده-مغز شناخته می‌شود. مطالعه بر روی جوندگان نشان داده که عدم تنظیم این محور سبب عدم کارکرد صحیح روده و ایجاد بیماری‌هایی از جمله سندرم روده تحریک پذیر می‌گردد.

پروبیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی از میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که با بهبود تعادل میکروبی روده، اثرات مفیدی را بر روی میزان اعمال می‌کنند و باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن می‌شوند. فلور روده انسان حاوی انواع بسیاری از باکتری‌ها است. بسیاری از این باکتری‌ها برای گوارش بهینه غذا مفیدند. دسته‌ای از این باکتری‌ها که به باکتری‌های پروبیوتیک معروف هستند، علاوه بر کمک به گوارش مولکول‌های پیچیده، ترکیباتی مانند ویتامین‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف را تولید می‌کنند که برای بدن مفید می‌باشد. منبع باکتری‌های پروبیوتیک لبنیات و میوه‌ها هستند. فرآورده‌های پروبیوتیکی حاوی باکتری‌های مفیدی هستند که اثرات مفیدی در سلامتی مصرف کننده بر جای می‌گذارند (۱۲).

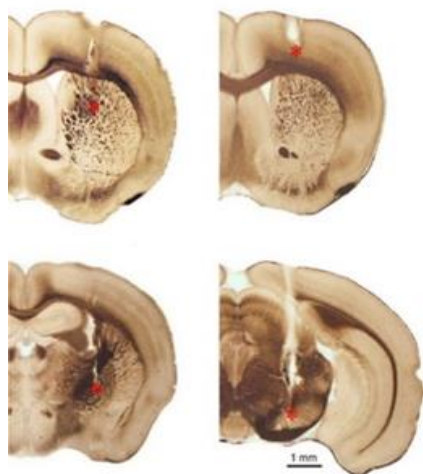
مواد و روش‌ها

حیوانات

در آزمایش‌ها از موش‌های بزرگ صحرایی آزمایشگاهی نر به وزن تقریبی $180-200 \text{ g}$ که از انستیتو

² ALFASAN

¹ sigma



شکل ۱. برش بافت‌شناسی

مقداری پودر پنی‌سیلین برای جلوگیری از عفونت در محل بریدگی ریخته و پس از آن به وسیله‌ی نخ بخیه سر موش‌ها بسته شد.

برش بافتی

پس از انجام آزمایش‌های لازم و تست‌نهایی برای اطمینان از درست بودن محل جراحی، مغز موش‌ها را درآورده به مدت یک هفته در فرمالین می‌گذاریم و بعد از آن برش عرضی می‌دهیم (شکل ۱).

تست چرخشی آپومورفین

ابتدا هر موش به مدت ۱۵ min جهت آشنایی با محیط انجام این تست، در یک استوانه گرد (۲۸ cm قطر، ۳۸ cm ارتفاع) قرار گرفته و سپس مقدار ۰/۵ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن هیدروکلراید آپومورفین محلول در سالیین به صورت زیر جلدی تزریق و دوباره موش در داخل استوانه قرار داده خواهد گرفت. تعداد کل چرخش کامل (۳۶۰°) انجام شده در جهت موافق و مخالف سمت آسیب‌دیده جسم مخطط در طی یک دوره یک‌ساعته با استفاده از نوار ویدئویی ضبط و سپس توسط محقق شمارش خواهد شد. تعداد چرخش‌های سمت آسیب‌دیده از سمت مخالف تفریق شده که بیانگر تعداد چرخش خالص به سمت مخالف است. چرخش بیشتر نشان‌دهنده شدت ضایعه از نظر از دست دادن سلول‌های دوپامینرژیک است.

گوشی در فرورفتگی مربوط به صندوق صماخی و دندان‌ها ی پیشین در داخل سوراخ میله دندان‌ی جاسازی می‌شوند. با پنبه آغشته به الکل آن محل ضدعفونی شده و توسط تیغ جراحی استریل یک برش از فاصله بین چشم‌ها تا گوش‌ها در قسمت وسط (در امتداد شیار ساجیتال میانی جمجمه) داده می‌شد.

بعد از برش با کنار زدن پوست سر به وسیله‌ی پنبه و الکل سفید تمام چربی‌هایی که بین پوست و استخوان جمجمه است کاملاً برداشته می‌شد و پس از خشک شدن کامل سطح جمجمه دو نقطه براگما و لامبدا (محل تقاطع درز تاجی و درز سهمی) و خط وسط آن کاملاً مشخص شد و با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۳) مختصات ماده سیاه (DV: ۷/۲، ML: ۱/۷، AP: -۵/۳) مشخص گردید، سپس با استفاده از جدول و نشان‌دار کردن مکانی که کانول باید در آن قرار گیرد و با استفاده از مته به دقت این مکان سوراخ گردید. بعد از این کار با استفاده از دستگاه استریوتاکسی یک کانول ۲۲ گیج به طول ۱/۲ mm در داخل سوراخی که قبلاً توسط مته ۰/۷ ایجاد شده بود قرار می‌گرفت.

تزریق درون مغزی دارو

به دلیل اینکه مدت‌زمان تزریق حدود ۱۰ min طول می‌کشد و چون نگهداری موش در حالت طبیعی برای تزریق مشکل است ما ترجیح دادیم که تزریق دارو را بلافاصله بعد از کانول‌گذاری و همان‌زمانی که موش بی‌هوش است انجام دهیم.

برای تزریق دارو از کانول ۲۷ گیج دندانپزشکی به طول ۱/۳ mm استفاده شد که یک میلی‌متر باید بزرگ‌تر از کانول راهنما باشد طوری که به نزدیک‌ترین ناحیه‌ی در اطراف جسم سیاه رسیده ولی به آن آسیب نرساند. سرسوزن ۲۷ گیج دندانپزشکی را داخل کانول ۲۲ قرارداده سپس تزریق به وسیله‌ی کت دان تیوپ و سرنگ ۵ μl همیلتون انجام شد، تزریق به آرامی صورت گرفت و این آرام بودن به این دلیل است که دارو باید کم‌کم وارد جسم سیاه شود و از کانول بیرون نیاید تا به درستی جذب هسته سیاه شود. پس از تزریق

از آپومورفین این دو گروه نشان می‌دهد که، سه هفته بعد از ایجاد آسیب، بین گروه ضایعه دیده (L) نسبت به گروه کنترل (SH) در میانگین تعداد چرخش‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در واقع بر اساس نتایج به دست آمده گروه کنترل بعد از تزریق داخل صفاقی آپومورفین، رفتار چرخشی اندکی از خود نشان دادند. هر ستون نمایانگر میانگین \pm خطای استاندارد مربوط به ۸ موش در هر گروه است. اختلاف $p \leq 0/001$ *** نسبت به گروه شم معنی‌دار می‌باشد.

بررسی تأثیر تیمار پروبیوتیک پس از القای پارکینسون توسط ۶- هیدروکسی دوپامین

در این آزمایش تأثیر تیمار پروبیوتیک پس از القای پارکینسون توسط ۶- هیدروکسی دوپامین در جدول ۱ و شکل ۳ ارائه شده است. آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تیمار پروبیوتیک همراه با شیر منجر به بی‌اثر شدن تزریق درون مغزی ۶- هیدروکسی دوپامین و بهبود پارکینسون در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی شد ($p < 0/001$). آنالیز مکمل توکی نشان داد که گاواژ شیر و پروبیوتیک به مدت یک ماه منجر به بهبود پارکینسون توسط ۶ هیدروکسی دوپامین می‌شود که با تست چرخش آپومورفین قابل اندازه‌گیری است.

گروه اول شامل موش‌هایی که هیچ تزریق درون مغزی را دریافت نکردند و پس از سه هفته تست چرخشی آپومورفین از آن‌ها گرفته شد و پس از هفت هفته مجدد تست چرخشی آپومورفین از آن‌ها گرفته شد.

گروه دوم شامل موش‌هایی که جراحی شده و تزریق درون مغزی از ۶- هیدروکسی دوپامین را دریافت کردند و پس از سه هفته تست چرخشی آپومورفین از آن‌ها گرفته شد و به مدت یک ماه سالین را به صورت گاواژ دریافت کردند و پس از هفت هفته تست چرخشی آپومورفین از آن‌ها گرفته شد.

نتایج میانگین تعداد چرخش‌ها پس از تزریق آپومورفین نشان داد که در گروه کنترل (SH) در تعداد

تجزیه و تحلیل یافته‌های تحقیق

نتایج حاصله را توسط نرم‌افزار آماری SPSS و تست توکی^۱ بررسی می‌کنیم. تفاوت در سطح $p < 0/05$ معنی‌دار تلقی گردید.

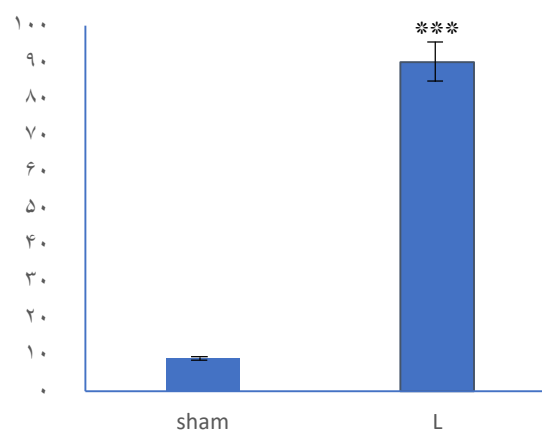
نتایج

آزمایش اول

اثرات تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین جهت القا پارکینسون

اثر تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین جهت القا پارکینسون در شکل ۲ ارائه شده است. آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آنالیز مکمل توکی نشان داد که تزریق ۶- هیدروکسی دوپامین منجر به القا پارکینسون در سه هفته پس از تزریق می‌شود ($p < 0/001$).

در این پژوهش اثر تزریق ۶- هیدروکسی دوپامین برای القا پارکینسون مورد آزمایش قرار گرفت. یک گروه جراحی نشده و هیچ تزریقی را دریافت نکردند. گروه دوم تزریق درون ماده سیاه از ۶-هیدروکسی دوپامین را دریافت کردند و سه هفته پس از تزریق از هر دو گروه تست چرخش آپومورفین گرفته شد. نتایج حاصل از تست چرخش ناشی



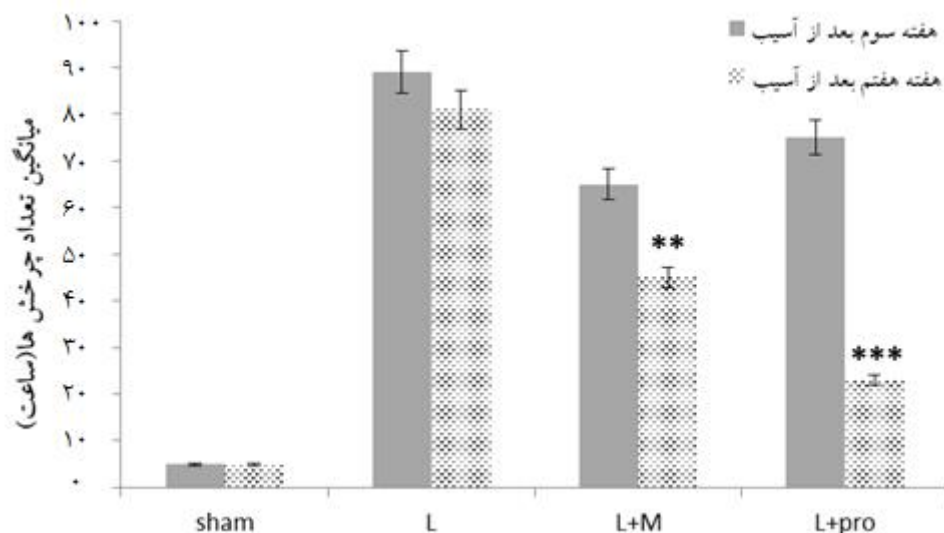
شکل ۲. آثار تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین بر القا پارکینسون در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی. داده‌ها به صورت میانگین \pm چارک نشان داده شده است. $P < 0/001$ *** در مقایسه با گروه سالم می‌باشد. شم^۲ گروه شاهد و L گروه آسیب‌دیده است.

² sham

¹ tukey

جدول ۱. گروه‌های آزمایشی و تیمار شده در آزمایش ۲

گروه‌های آزمایشی	تزریق درون مغزی	گاوآژ	تست آپومورفین
گروه اول	-	آب و غذای معمولی	هفته سوم و هفتم
گروه اول	6-OHDA(1mg/kg)	Saline	هفته سوم و هفتم
گروه سوم	6-OHDA(1mg/kg)	Milk	هفته سوم و هفتم
گروه چهارم	6-OHDA(1mg/kg)	Milk+probiotic	هفته سوم و هفتم



شکل ۳: تأثیر پیش تیمار پروبیوتیک و شیر بر القا پارکینسون توسط ۶-هیدروکسی دوپامین شام گروه شاهد، L گروه آسیب دیده، L+M گروه آسیب دیده‌ای که شیر دریافت کرده‌اند، L+pro گروه آسیب دیده‌ای که پروبیوتیک دریافت کردند.

** نشان دهنده وجود تفاوت معنادار در سطح ۰/۰۱ است.

*** نشان دهنده وجود تفاوت معنادار در سطح ۰/۰۰۱ است.

بحث

یکی از متداول‌ترین نوروپاتی‌های دوپامینی، ۶-هیدروکسی دوپامین است که از طریق ترانسپورتهای دوپامینی وارد این نوروپاتی می‌گردد. استرس اکسایشی القا شده با ۶-OHDA به واسطه افزایش رادیکال‌های آزاد واکنش پذیر اکسیژن می‌تواند به لیسید، پروتئین و DNA آسیب رساننده موجب تخریب این نوروپاتی و ایجاد اختلالات عصبی می‌شود (۱۴). ۶-هیدروکسی دوپامین توسط مکانیسم‌های متعددی عملکرد میتوکندریایی را دچار اختلال می‌کند و چون این ترکیب توانایی عبور از سد خونی مغزی را ندارد، بنابراین باید جهت ایجاد مدل حیوانی پارکینسون و اعمال اثر آن به صورت داخل مغزی و از طریق جراحی

چرخش‌ها در هفته هفتم بعد از آسیب نسبت به هفته سوم اختلاف معنی داری وجود ندارد. در گروه ضایعه دیده (L) نیز اختلاف معنی داری در تعداد چرخش‌ها در هفته هفتم بعد از آسیب نسبت به هفته سوم وجود ندارد. اما در گروه ضایعه دیده دریافت کننده شیر (L+M)، کاهش معنی داری در تعداد چرخش‌ها در هفته هفتم بعد از آسیب نسبت به هفته سوم مشاهده شده است ($p \leq 0.01$). همچنین در گروه ضایعه دیده تحت درمان با پروبیوتیک نیز (L+pro) کاهش معنی دار تعداد چرخش‌ها در هفته هفتم بعد از آسیب نسبت به هفته سوم مشهود است ($p \leq 0.001$). هر ستون نمایانگر میانگین با خطای استاندارد مربوط به ۸ موش در هر گروه است.

می‌باشد (۱۸). از آنجائی که بر طبق مطالعات انجام‌شده، پروبیوتیک‌ها در تولید و افزایش نوروترانسمیترها از جمله دوپامین نقش بسزایی دارند (۱۹). احتمالاً در مطالعه حاضر نیز، پروبیوتیک با افزایش دوپامین مانع آسیب نورون‌های دوپامینرژیک شده و موجب درمان بیماری پارکینسون در گروه رت‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک شده‌اند.

از جمله عوامل اصلی بروز بیماری پارکینسون عدم تعادل بین آنتی اکسیدان‌ها و رادیکال‌های آزاد و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد. در این خصوص، تئوری بروز بیماری پارکینسون به وسیله رادیکال آزاد این گونه بیان می‌کند که تجمع رادیکال‌های آزاد منجر به آسیب مولکول‌های زیستی حیاتی مانند DNA، غشای لیپیدی و پروتئین‌ها می‌شود (۲۰). چنانچه رادیکال‌های آزاد بیش از حد تولید شوند یا آنتی اکسیدان‌های آندروژنیک کاهش یابند، آسیب نورونی ایجاد خواهد شد. بنابراین تعادل مناسب بین رادیکال‌های آزاد و آنتی اکسیدان‌ها برای بقای نورون‌ها ضروری هستند و از آنجایی که بیماری پارکینسون به دلیل عواملی چون استرس اکسایشی رخ می‌دهد، بنابراین استفاده از مواد آنتی اکسیدانی می‌تواند برای مبارزه با رادیکال‌های آزاد و بهبود بقای نورون‌ها مفید باشد (۲۱).

آنتی اکسیدان‌های طبیعی و مصنوعی زیادی در دسترس بوده و می‌توانند برای درمان بیماری پارکینسون استفاده شوند. در این زمینه مطالعات نشان داده‌اند که آنتی اکسیدان کرسنتین دارای آثار محافظتی در برابر بیماری پارکینسون می‌باشد (۲۲). در مطالعات دیگری نیز گزارش کردند، مصرف آنتی اکسیدان کوآنزیم کیو تأثیر محافظتی در برابر بیماری پارکینسون دارد و تمرینات ورزشی تأثیر آنتی اکسیدانی آن را تقویت می‌کند (۲۳).

در این زمینه مطالعات، نشان داده است که استفاده از پروبیوتیک‌ها باعث افزایش آنتی اکسیدان‌ها و کاهش رادیکال‌های آزاد می‌گردند. بر اساس این مطالعه،

استریوتاکیسی تجویز گردد (۱۵). در این زمینه ویشرا^۱ و همکارانش طی مطالعات خود، جهت بررسی تغییرات رفتار حرکتی، تزریق دورن بطنی ۶-OHDA به موش را به عنوان مدل حیوانی بیماری پارکینسون به کار برده و اظهار داشتند که ۶-هیدروکسی دوپامین آسیب نورون‌های دوپامینرژیک جسم مخططی - جسم سیاه را از طریق تولید هیدروژن پراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل القاء می‌کند (۱۶).

همچنین طی پژوهش دیگری، جهت ایجاد مدل بیماری پارکینسون از تزریق یک طرفه ۶-OHDA به درون جسم سیاه مغز موش صحرایی استفاده شد. به دنبال این تزریق، تخریب فوری و کامل نورون‌های CNS دوپامینرژیک ایجاد گردید که این تخریب منجر به کاهش دوپامین در جسم مخطط شد. بر طبق نتایج به دست آمده از این مطالعه، میزان کاهش دوپامین در جسم مخطط با اندازه‌گیری تعداد چرخش‌ها ناشی از تزریق آپومورفین سنجیده شد. آپومورفین باعث تحریک چرخش حیوان به سمت مقابل ناحیه‌ی تخریب شده که این بیانگر تخریب ۸۰ درصدی در CNS می‌باشد. بروز این چرخش‌ها علامت ایجاد بیماری پارکینسون در موش صحرایی است (۱۷). در تائید این مطالعات یافته‌های به دست آمده از پژوهش حاضر نیز نشان داد تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین منجر به ایجاد پارکینسون گردید به طوری که سه هفته پس از تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین تست چرخشی آپومورفین این موضوع را ثابت کرد. همچنین بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه مصرف یک‌ماهه پروبیوتیک باسیلوس کواگولانس منجر به بهبود چرخش در موش‌های پارکینسونی شده شد.

بر اساس مطالعات انجام‌شده توسط اکراینتسوا^۲ و همکارش تحت عنوان نقش دوپامین در اختلال نارسایی کلیه در بیماری پارکینسون، به نقش دژنراسیون سیستم دوپامینرژیک در ایجاد اختلال در بیماری پارکینسون تأکید شده و تجمع α -سینوکلین در هسته به عنوان یک مکانیسم احتمالی در بروز این اختلال بوده که با کمبود دوپامین مرتبط

² Ukraintseva

¹ Mishra

و مفید در اعمال شناختی در طی وضعیت‌های پراسترس دارد (۲۸). با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه نیز، احتمالاً پروبیوتیک باسیلوس کواکولانس با افزایش میزان بیان گابا منجر به بهبود اختلالات عصبی و درمان بیماری پارکینسون در رت‌ها شده است.

گلو تامات (اسید گلو تامیک) یک اسید آمینه غیر ضروری دی کربوکسیلیک است که در ساختارهای مختلف مغز انسان و حیوانات به عنوان نوروترانسمیتر عمده تحرکی حضور داشته و در اثرات فیزیولوژیک متعددی نظیر تکامل مغز و انعطاف پذیری سیناپسی مشارکت دارد (۲۹). معمولی ترین اختلال در مورد گلو تامات کاهش تعداد پروتئین‌های انتقال دهنده آن می باشد. عوامل مختلفی نظیر گونه‌های واکنش زای اکسیژن در این زمینه مطرح هستند. کاهش تعداد این پروتئین‌ها در بیماری‌های مزمن نورودژنراتیو نظیر بیماری آلزایمر و پارکینسون گزارش شده است (۳۰). در مطالعات مختلف مشاهده شده است که گلو تامات علاوه بر نقش در بروز بیماری‌های تحلیل برنده‌ی عصبی، به عنوان یک عمل کننده‌ی اصلی فرآیند استرس اکسیداتیو بوده و فعال شدن گیرنده‌های NMDA گلو تامات به عنوان عامل اصلی در تحلیل سیستم عصبی همچون پارکینسون مطرح می باشد (۳۱).

ترکیبات آنتی اکسیدانی پاسخ‌های ناشی از تحریک گیرنده‌های NMDA را در نورون‌های کورتکس در محیط کشت کاهش می دهد. به عبارت دیگر آنتی اکسیدان‌ها یک عامل حفاظتی در مقابل سمیت القا شده توسط گلو تامات در نورون‌های کورتکس است (۳۲). از طرفی افاف^۳ و همکاران طی مطالعات خود نشان داده اند که پروبیوتیک‌ها در کاهش نوروترانسمیترهایی از جمله گلو تامات نقش عمده‌ای دارند (۳۳)، بنابراین احتمالاً در مطالعه حاضر نیز، پروبیوتیک مورد مطالعه، هم به طور مستقیم و هم با خاصیت آنتی اکسیدانی خود موجب کاهش گلو تامات و به دنبال آن

پروبیوتیک‌ها از طریق کاهش آسیب‌های التهابی و افزایش سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و گلو تاتیون پراکسیداز (GP) استرس اکسیداتیو را مهار می کنند (۲۴). این موضوع بیانگر آن است که احتمالاً در مطالعه حاضر نیز، پروبیوتیک‌ها با افزایش سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند سوپر اکسید دیسموتاز و گلو تاتیون پراکسیداز، استرس اکسیداتیو را مهار و از این طریق اثرات حفاظتی خود را بر بافت‌های عصبی آسیب دیده اعمال می کند.

گابا بزرگ ترین و مهم ترین نوروترانسمیتر مهاری در سیستم عصبی مرکزی پستانداران است. در انسان درصد بالایی از مسیرهای عصبی را سیستم گابا ترژیک تشکیل می دهند و تغییر در فعالیت این سیستم می تواند بر فعالیت همه سیستم‌های نوروترانسمیتری تأثیر گذار باشد، همچنین بسیاری از مطالعات نقش تحریک گیرنده‌ی گابا را در اختلالات عصبی مثل پارکینسون نشان داده اند (۲۵). در این رابطه، تحقیقات جانوش^۱ نیز، نقش مهم گیرنده‌های نوروترانسمیتری از جمله گابا را در تکوین ساختارهای عصبی-مغزی در دوران جنینی و اولیه پس از تولد بر روی شکل گیری اختلالات عصبی-روانی به وضوح نشان داده اند (۲۶).

بر طبق مطالعات صورت گرفته مصرف مزمن پروبیوتیک‌ها موجب تغییراتی در بیان mRNA مربوط به گابا در نواحی مختلف مغز می شود. بدین ترتیب که در نواحی قشری یعنی سینگولیت و پری لیمبیک میزان بیان mRNA افزایش می یابد و برعکس بیان آن در هیپوکامپ، آمیگدال و لوکوس سرولئوس کاهش می یابد و در مورد گابا بیان mRNA بیان آن در قشر پیش پیشانی و آمیگدال کاهش و در هیپوکامپ افزایش می یابد (۲۷). علاوه بر این افزایش بیان زیر واحد گیرنده گابا القاء شده توسط پروبیوتیک لاکتوباسیلوس بیانگر آن است که این باکتری یک اثر مثبت

³ Afaf

¹ Janusz

² *Bacillus coagulance*

آدرنژیک همچون اپی نفرین و نور اپی نفرین می باشد (۳۷)، احتمالاً پروبیوتیک‌های موجود در این پژوهش نیز با افزایش گیرنده‌های آدرنژیک در تنظیم سلول‌های عصبی موثر بوده و سبب بهبود بیماری پارکینسون می‌شوند.

ناکافی بودن ویتامین D از عوامل دیگری است که به پاتوژن بیماری پارکینسون کمک می‌کند. تعداد زیادی از اشکال ویتامین D وجود دارد، اما ویتامین D3 شکل طبیعی در حیوانات و فرم مورد اشاره در مطالعات غددی است. ویتامین D3 به دو شکل هیدروکسیلاسیون می‌شود که ۲۵ هیدروکسی، ویتامین D3 را تشکیل می‌دهد. این هیدروکسیلاسیون در کبد انجام می‌شود (۳۸). مطالعات نشان داده است که در مغز موش‌هایی که با کمبود ویتامین D3 همراه بود، بطن‌های جانبی بزرگ‌تر و کاهش ضخامت قشر را به همراه داشت و بیان فاکتورهای رشد عصبی (NGF) و فاکتورهای نروتروفیک مشتق از سلول گلیال (GDNF) در مغز این حیوانات کاهش یافته بود. NGF اولین عضو کشف شده از خانواده‌ی نروتروفین‌ها می‌باشد که برای آن نقش تغذیه‌ای، حفاظت، تمایز، بلوغ و گسترش نورون‌ها را قائل شده‌اند. کاهش غلظت NGF در سیستم عصبی مرکزی CNS موش‌های مدل پارکینسونی مشاهده شده است (۳۹).

در این زمینه نتایج مطالعات نشان داده است که میزان ویتامین D3 سرم خون در گروه مصرف کننده پروبیوتیک نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است (۴۰). بنابراین با توجه به اثر حفاظت عصبی ویتامین D3 در بیماری‌های تحلیل برنده سیستم عصبی و کاهش علائم در مدل حیوانی، استفاده از پروبیوتیک‌ها می‌تواند راهکار مؤثری جهت بالا بردن سطح سرمی ویتامین D3 حتی به‌طور جزئی به‌عنوان یک عامل حفاظت عصبی در مقابل پاسخ‌های آپوپتوتیک سیستم عصبی باشد و از این طریق در بهبود بیماری پارکینسون اثرگذار باشد.

اکسایش نورونی و نقص عملکردی میتوکندریایی با فرآیند تخریب نورونی همراه است. در بیماران مبتلا به

بهبود سیستم عصبی شده و نهایتاً سبب بهبود و درمان بیماری پارکینسون می‌شود.

مسیرهای نورآدرنژیک که بخش عمده‌ای از آن‌ها از لوکوس سرولتوس منشأ می‌شوند، نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای شناختی دارند. لوکوس سرولتوس، آمیگدال، هیپوکامپ و قشر جدید نواحی مهم مغز هستند که فرآیندهای شناختی را با واسطه‌ی گیرنده‌های نورآدرنژیک تنظیم می‌کنند. نور اپی نفرین توانایی زیادی در رهاسازی ناقلین عصبی و نوروپپتیدها از نورون‌های رابط در هیپوکامپ دارد (۳۴). همچنین مطالعات انجام شده توسط لسوک و همکاران در توالی ژنتیکی گیرنده‌های آدرنژیک نشان داد که تغییرات در انواع مختلف گیرنده‌های آدرنژیک همراه با تغییرات شناختی می‌باشد. اثر گیرنده‌های آدرنژیک بر اختلال شناختی نشان داده شد که این ناقل عصبی نقش تعیین‌کننده‌ای بر مکانیسم این روند دارد. استفاده از آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌ها نشان می‌دهند که سیستم نورآدرنژیک در شکل‌گیری حافظه نقش مهمی دارد (۳۵). بررسی‌های انجام شده توسط محققین نشان داده است که گیرنده‌های آدرنژیک ارتباط نزدیکی با اختلال شناختی در پارکینسون دارد. بر طبق مطالعات انجام شده در این مورد، تراکم گیرنده‌های $\alpha 1$ و $\beta 1$ آدرنژیک و کاهش گیرنده‌های آدرنژیک $\alpha 2$ در بیماران مبتلا به پارکینسون رخ می‌دهد. کاهش گیرنده‌های آدرنژیک $\alpha 1$ در نواحی قشر جلویی مغز و هسته‌ی پوتامن بیماران پارکینسون اتفاق می‌افتد. آنتاگونیست گیرنده‌ی $\alpha 1$ آدرنژیک پرازوسین به‌صورت وابسته به دوز می‌تواند بر این بیماری اثر داشته و در پاتولوژی سلول‌های عصبی نقش داشته باشد. فعال شدن گیرنده‌های $\alpha 1$ و $\alpha 2$ در هسته‌ی زیر تالاموس فعالیت‌های حرکتی وابسته به این هسته را کنترل می‌کند. در نتیجه نقش گیرنده‌های آدرنژیک $\alpha 1$ و $\alpha 2$ در تنظیم سلول‌های عصبی مشخص می‌باشد (۳۶).

در این مورد بر اساس مطالعات، پروبیوتیک‌ها به‌عنوان عامل پیش ساز انتقال دهنده‌های عصبی گیرنده‌های

¹ Lesiuk

مهار آنزیم پروتئین کیناز C (PKC) مانع از عملکرد لنفوسیت T می‌گردد. آنتی اکسیدان‌ها موجب مهار فسفولیپاز A2 که از واسطه‌های التهابی می‌باشد، می‌گردد. همچنین باعث مهار آنزیم $Na^+/K^+ATPase$ ، القاکننده‌ی آزادسازی هیستامین از ماست سل می‌شود (۴۸). امری و همکاران نیز در مطالعه‌ای، نقش ضد التهابی آنتی اکسیدان‌ها را مورد بررسی قرار دادند. بر طبق این مطالعه، ترکیبات آنتی اکسیدانی نقش ضد التهابی خود را از طریق مهار سنتز و فعالیت واسطه‌های التهابی مانند سایتوکین‌های التهابی نظیر IL-1 و IL-6، ایکوزانوئیدها، مولکول‌های چسبندگی و پروتئین‌های فعال C و ممانعت از ترجمه‌ی فاکتورهایی مانند NF-KappaB و پروتئین فعال-1 (AP-1) اعمال می‌کند. مهار مسیر NF-KappaB منجر به کاهش تولید $TNF-\alpha$ و iNOS به عنوان یکی از آنزیم‌های کلیدی در فعال شدن سلول‌های التهابی می‌شود. از طرفی کاهش تولید IL-1 به وسیله آنتی اکسیدان‌ها منجر به کاهش تولید IL-2 می‌شود (۴۹). بنابراین احتمالاً، با توجه به خاصیت آنتی اکسیدانی پروبیوتیک‌ها، در گروه دریافت کننده پروبیوتیک باسیلوس کواکولانس، این ترکیبات با کاهش ترشح سایتوکاین‌های پیش التهابی نظیر $TNF-\alpha$ و اینترکولین‌های ۱ و ۶، از آسیب و مرگ نوروها جلوگیری کرده و بدین ترتیب سبب درمان رت‌های مبتلا به بیماری پارکینسون شده است.

نتیجه گیری

با توجه به آزمایشات انجام شده در مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که پروبیوتیک درمان کامل و دائمی برای بیماری پارکینسون نمی‌باشد اما می‌تواند روند پیشرفت این بیماری و علائم خاص این بیماری را کاهش دهد و باعث افزایش طول عمر در این بیماران شود.

ما به صورت کاملاً مشخص مشاهده کردیم که موش‌های گروه شاهد پارکینسونی با گذر زمان ضعیف‌تر می‌شوند و حتی در بعضی موارد لاغر می‌شوند.

پارکینسون، کاهش فعالیت کمپلکس ۱ میتوکندری در سیستم عصبی و همچنین پیوند بین نقص عملکردی میتوکندریایی و بیماری‌های تخریب نرونی در محیط آزمایشگاهی و مطالعه‌ی ژنتیکی مدل‌های حیوانی مشاهده شده است (۴۱). القای مسیر میتوکندریایی و افزایش تعدا میتوکندری حاصل از آن، باعث تسهیل فراهم شدن انرژی، تولید کمتر گونه‌های فعال اکسیژن و فرآیندهای سودمند دیگری می‌شود که همگی نقش حفاظت عصبی دارند (۴۲). در این مورد استفاناکس^۱ و همکاران در طی مطالعات خود به القای مسیر میتوکندریایی سلول‌های کارسینومای کولون انسانی توسط باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس اشاره کردند (۴۳). بنابراین در این مطالعه نیز احتمالاً پروبیوتیک‌ها با القای مسیر میتوکندریایی، نقش حفاظت نرونی داشته و توانسته است در درمان بیماری پارکینسون مؤثر واقع شود.

پرونده‌های التهابی گوناگون و سایتوکین‌ها نقش اساسی در پاتوژنز بیماری پارکینسون ایفا می‌کنند (۴۴). فاکتورهای التهابی توسط سلول‌های ایمنی بدن برای مقابله با عوامل بیگانه و همچنین در اثر برخورد با بافت‌های آسیب دیده تولید می‌شود. بافت‌های آسیب دیده و وجود مواد غیرطبیعی غیرفعال (پلاک‌های پیری) که از نشانگرهای عمده بیماری‌های اختلالات عصبی می‌باشند، از منابع عمده تحریک کننده التهاب می‌باشند (۴۵). در واقع فرآیندهای التهابی موضعی می‌توانند موجب نورو توکسیته مستقیم، دخالت در بیان و متابولیسم و دوام ترشح پروتئین‌های فاز حاد شده، که در نهایت منجر به آسیب و مرگ نوروها می‌گردد (۴۶). از آنجایی که نوروهای دوپامینرژیک هسته‌ی سیاه به عوامل پیش برنده‌ی التهابی حساسیت بیشتری نشان می‌دهد، افزایش این سایتوکین و فاکتور التهابی در بسیاری از بیماری‌های نورودژنراتیو همچون پارکینسون دیده شده و موجب افزایش آسیب و مرگ نوروها شده است (۴۷). در این خصوص مطالعات امری^۲ و همکاران، این گونه اظهار داشتند که ترکیبات حاوی آنتی اکسیدان با

² Amri

¹ Stefanaki

- ascidian associated *Bacillus subtilis* GA CAS8 using agricultural wastes. *Biocatal Agric Biotechnol* [Internet]. Elsevier; 2015 Apr 1 [cited 2018 Aug 10];4(2):214–20. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878818114001534>
8. Creed RB, Goldberg MS. New Developments in Genetic rat models of Parkinson's Disease. *Mov Disord* [Internet]. 2018 May [cited 2018 Aug 16];33(5):717–29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29418019>
 9. O'Keeffe GW, Hegarty SV, Sullivan AM. Targeting bone morphogenetic protein signalling in midbrain dopaminergic neurons as a therapeutic approach in Parkinson's disease. *Neuronal Signal* [Internet]. 2017;1(2):NS20170027. Available from: <http://www.neuronalsignaling.org/lookup/doi/10.1042/NS20170027>
 10. Robinson SE, Sohal VS. Dopamine D2 receptors modulate pyramidal neurons in mouse medial prefrontal cortex through a stimulatory G protein pathway. *J Neurosci* [Internet]. 2017;37(42):1893–17. Available from: <http://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.1893-17.2017>
 11. Espay AJ, Schwarzschild MA, Tanner CM, Fernandez HH, Simon DK, Leverenz JB, et al. Biomarker-driven phenotyping in Parkinson's disease: A translational missing link in disease-modifying clinical trials. *Mov Disord* [Internet]. 2017 Mar [cited 2018 Aug 16];32(3):319–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28233927>
۱۲. جعفری پ، ابراهیمی م. میکروبیولوژی کاربردی. ۱. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی؛ ۱۳۸۹.
13. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier; 2007.
 14. Sharma S, Taliyan R. High fat diet feeding induced insulin resistance exacerbates 6-OHDA mediated neurotoxicity and behavioral abnormalities in rats. *Behav Brain Res* [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2018 Aug 18];351:17–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29842916>
 15. Ghasemi Z, Kiasalari Z, Ebrahimi F, Ansari F, Sharayeli M, Roghani M. Neuroprotective effect of diosgenin in 6-hydroxydopamine-induced model of Parkinson's disease in the rat. *Daneshvar* [Internet]. Daneshvar; 2017 [cited 2018 Aug 18];24(129):87–98. Available from: http://daneshvarmed.shahed.ac.ir/browse.php?a_id=1762&sid=1&slc_lang=en
 16. Mishra A, Chandravanshi LP, Trigun SK, Krishnamurthy S. Ambroxol modulates 6-Hydroxydopamine-induced temporal reduction in Glucocerebrosidase (GCase) enzymatic activity and Parkinson's disease symptoms. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2018 Sep 21 [cited 2018 Aug 18];155:479–93.
- مشاهده شد در بعضی موارد لرزش‌های زیادی مشاهده کردیم اما در گروه‌هایی که شیر و شیر به همراه پروبیوتیک دریافت می‌کردند با گذر زمان لرزش و کاهش وزن دیده نشد و موش‌ها حالات طبیعی‌تری را داشتند. در حالت کلی می‌توان گفت پروبیوتیک ممکن است از طریق جبران میزان غلظت دوپامین در مراکز دیگری از سیستم عصبی مرکزی باعث بهبودی این بیماری شود.

منابع

1. Gould FDH, Gross A, German RZ, Richardson JR. Evidence of Oropharyngeal Dysfunction in Feeding in the Rat Rotenone Model of Parkinson's Disease. *Parkinsons Dis* [Internet]. Hindawi; 2018 Mar 11 [cited 2018 Aug 16];2018:1–8. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/pd/2018/6537072/>
2. Sajatovic M, Ridgel AL, Walter EM, Tatsuoka CM, Colón-Zimmermann K, Ramsey RK, et al. A randomized trial of individual versus group-format exercise and self-management in individuals with Parkinson's disease and comorbid depression. *Patient Prefer Adherence* [Internet]. Dove Press; 2017 [cited 2018 Aug 16];11:965–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28579759>
3. Hirsch L, Jette N, Frolkis A, Steeves T, Pringsheim T. The Incidence of Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuroepidemiology* [Internet]. 2016 [cited 2018 Aug 10];46(4):292–300. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27105081>
4. George Kerry R, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin H-S, Das G. Benefaction of probiotics for human health: A review. *J Food Drug Anal* [Internet]. Elsevier; 2018 Jul 1 [cited 2018 Aug 16];26(3):927–39. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1021949818300309>
5. Sanadi NF a., Van Fan Y, Leow CW, Wong JH, Koay YS, Lee CT, et al. Growth of bacillus coagulans using molasses as a nutrient source. *Chem Eng Trans* [Internet]. 2017;56(2008):511–6. Available from: <http://www.aidic.it/cet/17/56/086.pdf>
6. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2017 Jun 14 [cited 2018 Aug 16];14(8):491–502. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28611480>
7. Sathishkumar R, Ananthan G, Arun J. Production, purification and characterization of alkaline protease by

- Wolters Kluwer Health, Inc. on behalf of the American Academy of Neurology; 2018 Aug 14 [cited 2018 Aug 16];91(7):e675–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30021920>
26. Błaszczyk JW. Nigrostriatal interaction in the aging brain: new therapeutic target for Parkinson's disease. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* [Internet]. 2017 [cited 2018 Aug 16];77(1):106–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28379221>
 27. Akhoundzadeh K, Vakili A, Shadnoush M, Sadeghzadeh J. Effects of the Oral Ingestion of Probiotics on Brain Damage in a Transient Model of Focal Cerebral Ischemia in Mice. *Iran J Med Sci* [Internet]. Shiraz University of Medical Sciences; 2018 Jan [cited 2018 Aug 16];43(1):32–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29398750>
 28. Ng QX, Peters C, Ho CYX, Lim DY, Yeo W-S. A meta-analysis of the use of probiotics to alleviate depressive symptoms. *J Affect Disord* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2018 Aug 16];228:13–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29197739>
 29. Andersen AD, Blaabjerg M, Binzer M, Kamal A, Thagesen H, Kjaer TW, et al. Cerebrospinal fluid levels of catecholamines and its metabolites in Parkinson's disease: effect of l-DOPA treatment and changes in levodopa-induced dyskinesia. *J Neurochem* [Internet]. 2017 May [cited 2018 Aug 16];141(4):614–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28244186>
 30. Belarbi K, Cuvelier E, Destée A, Gressier B, Chartier-Harlin M-C. NADPH oxidases in Parkinson's disease: a systematic review. *Mol Neurodegener* [Internet]. 2017 Dec 13 [cited 2018 Aug 16];12(1):84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29132391>
 31. Singh A, Jenkins MA, Burke KJ, Beck G, Jenkins A, Scimemi A, et al. Glutamatergic Tuning of Hyperactive Striatal Projection Neurons Controls the Motor Response to Dopamine Replacement in Parkinsonian Primates. *Cell Rep* [Internet]. 2018 Jan 23 [cited 2018 Aug 16];22(4):941–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29386136>
 32. Kazmi Z, Fatima I, Perveen S, Malik SS. Monosodium glutamate: Review on clinical reports. *Int J Food Prop* [Internet]. Taylor & Francis; 2017 Feb 22 [cited 2018 Aug 16];1–9. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2017.1295260>
 33. El-ansary A, Zayed N. On The Effectiveness of Probiotic as Treatment Strategy of Autism. 1:2–5.
 34. Sawada H, Oeda T, Umemura A, Satoshi T, Kohsaka M, Park K, et al. Risks and Triggers of Psychosis in Parkinson Disease. *J Alzheimer's Dis Park* [Internet]. OMICS International; 2018 Jan 10 [cited 2018 Aug 16];08(01):1–4. Available from: <https://www.omicsonline.org/open-access/risks-and-triggers-of-psychosis-in-parkinson-disease-2161-0460-1000413-99045.html>
- Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30040928>
17. Ryu Y-K, Park H-Y, Go J, Kim Y-H, Hwang JH, Choi D-H, et al. Effects of histone acetyltransferase inhibitors on l-DOPA-induced dyskinesia in a murine model of Parkinson's disease. *J Neural Transm* [Internet]. 2018 Sep 11 [cited 2018 Aug 18];125(9):1319–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29998409>
 18. Ukraintseva Y V., Kovalzon VM. Circadian regulation and its disorders in Parkinson's disease patients. Part 1: The role of dopamine in circadian dysfunction. *Hum Physiol* [Internet]. Pleiades Publishing; 2016 Jul 18 [cited 2018 Aug 10];42(4):444–53. Available from: <http://link.springer.com/10.1134/S0362119716040137>
 19. Caputi V, Giron MC. Microbiome-Gut-Brain Axis and Toll-Like Receptors in Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci* [Internet]. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2018 Jun 6 [cited 2018 Aug 16];19(6). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29882798>
 20. Sarbishegi M. Antioxidant Effects of Olive Leaf Extract in Prevention of Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *Gene, Cell Tissue* [Internet]. Kowsar; 2018 Jan 31 [cited 2018 Aug 16];In Press(In Press). Available from: <http://genecelltissue.com/en/articles/79847.html>
 21. Chonpathompikunlert P, Boonruamkaew P, Sukketsiri W, Hutamekalin P, Sroyraya M. The antioxidant and neurochemical activity of *Apium graveolens* L. and its ameliorative effect on MPTP-induced Parkinson-like symptoms in mice. *BMC Complement Altern Med* [Internet]. 2018 Dec 20 [cited 2018 Aug 16];18(1):103. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29558946>
 22. Ahmadinejad F, Geir Møller S, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Bidkhorji G, Jami M-S. Molecular Mechanisms behind Free Radical Scavengers Function against Oxidative Stress. *Antioxidants* [Internet]. 2017 Jul 10 [cited 2018 Aug 16];6(3):51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28698499>
 23. Compta Y, Giraldo DM, Muñoz E, Antonelli F, Fernández M, Bravo P, et al. Cerebrospinal fluid levels of coenzyme Q10 are reduced in multiple system atrophy. *Parkinsonism Relat Disord* [Internet]. 2018 Jan [cited 2018 Aug 16];46:16–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29107645>
 24. De Marco S, Sichetti M, Muradyan D, Piccioni M, Traina G, Pagiotti R, et al. Probiotic Cell-Free Supernatants Exhibited Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity on Human Gut Epithelial Cells and Macrophages Stimulated with LPS. *Evidence-Based Complement Altern Med* [Internet]. Hindawi; 2018 Jul 4 [cited 2018 Aug 16];2018:1–12. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2018/1756308/>
 25. Firbank MJ, Parikh J, Murphy N, Killen A, Allan CL, Collerton D, et al. Reduced occipital GABA in Parkinson disease with visual hallucinations. *Neurology* [Internet].

43. Stefanaki C, Bacopoulou F, Michos A. The impact of probiotics' administration on glycemic control, body composition, gut microbiome, mitochondria, and other hormonal signals in adolescents with prediabetes – A randomized, controlled trial study protocol. *Contemp Clin Trials Commun* [Internet]. 2018 Sep [cited 2018 Aug 16];11:55–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30003169>
44. Sobhani A, Ebrahimi H, Ebrahimi A, Saadatria M, Orooji H, Chitsaz A. VCAM-1 as an Endothelial Factor for Diagnosis of Dementia in Parkinson's Disease. *J Neurol Neurosci* [Internet]. iMedPub; 2018 Jan 27 [cited 2018 Aug 16];09(01). Available from: <http://www.jneuro.com/neurology-neuroscience/vcam1-as-an-endothelial-factor-for-diagnosis-of-dementia-in-parkinsons-disease.php?aid=21764>
45. Wakade C, Giri B, Malik A, Khodadadi H, Morgan JC, Chong RK, et al. Niacin modulates macrophage polarization in Parkinson's disease. *J Neuroimmunol* [Internet]. 2018 Jul 15 [cited 2018 Aug 16];320:76–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29759143>
46. Napoli E. Endogenous repair mechanisms enhanced in Parkinson's disease following stem cell therapy. *Brain Circ* [Internet]. Medknow Publications and Media Pvt. Ltd.; 2017 [cited 2018 Aug 18];3(3):163. Available from: <http://www.braincirculation.org/text.asp?2017/3/3/163/216590>
47. Ramkumar M, Rajasankar S, Gobi VV, Janakiraman U, Manivasagam T, Thenmozhi AJ, et al. Demethoxycurcumin, a Natural Derivative of Curcumin Abrogates Rotenone-induced Dopamine Depletion and Motor Deficits by Its Antioxidative and Anti-inflammatory Properties in Parkinsonian Rats. *Pharmacogn Mag* [Internet]. Medknow Publications; 2018 [cited 2018 Aug 16];14(53):9–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29576695>
48. Amri O, Zekhnini A, Bouhaimi A, Tahrouch S, Hatimi A. Anti-inflammatory Activity of Methanolic Extract from *Pistacia atlantica* Desf. Leaves. *Pharmacogn J* [Internet]. 2018 Dec;10:71–6. Available from: <http://fulltxt.org/article/369>
49. Paun G, Neagu E, Moroeanu V, Albu C, Ursu T-M, Zanfircu A, et al. Anti-inflammatory and antioxidant activities of the *Impatiens noli-tangere* and *Stachys officinalis* polyphenolic-rich extracts. *Rev Bras Farmacogn* [Internet]. Elsevier; 2018 Jan 1 [cited 2018 Aug 16];28(1):57–64. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X17303903>
35. Lesiuk T, Bugos J, Murakami B. A Rationale for Music Training to Enhance Executive Functions in Parkinson's Disease: An Overview of the Problem. *Healthcare* [Internet]. 2018 Apr 22 [cited 2018 Aug 16];6(2):35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29690546>
36. Vermeiren Y, Janssens J, Van Dam D, De Deyn PP. Serotonergic Dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Parkinson's Disease: Similar Mechanisms, Dissimilar Outcomes. *Front Neurosci* [Internet]. Frontiers Media SA; 2018 [cited 2018 Aug 16];12:185. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29615862>
37. Lyte M, Brown DR. Evidence for PMAT- and OCT-like biogenic amine transporters in a probiotic strain of *Lactobacillus*: Implications for interkingdom communication within the microbiota-gut-brain axis. Yamashita A, editor. *PLoS One* [Internet]. 2018 Jan 11 [cited 2018 Aug 16];13(1):e0191037. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29324833>
38. Jamali AA, Jamali GM, Tanwani BM, Jamali NH, Bhatia MR. Frequency of Low Vitamin D3 Levels in Subjects with Parkinson's Disease. A Study Conducted at PMCH, a Tertiary Care Hospital, Nawabshah. *Adv Park Dis* [Internet]. Scientific Research Publishing; 2018 Jan 30 [cited 2018 Aug 16];07(01):7–18. Available from: <http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/apd.2018.71002>
39. Abhari K, Shekarforoush SS, Sajedianfard J, Hosseinzadeh S, Nazifi S. The effects of probiotic, prebiotic and synbiotic diets containing *Bacillus coagulans* and inulin on rat intestinal microbiota. *Iran J Vet Res* [Internet]. 2015 [cited 2018 Aug 10];16(3):267–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27175187>
40. Raygan F, Ostadmohammadi V, Bahmani F, Asemi Z. The effects of vitamin D and probiotic co-supplementation on mental health parameters and metabolic status in type 2 diabetic patients with coronary heart disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* [Internet]. 2018 Jun 8 [cited 2018 Aug 16];84(Pt A):50–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29432877>
41. Zanon A, Pramstaller PP, Hicks AA, Pichler I. Environmental and Genetic Variables Influencing Mitochondrial Health and Parkinson's Disease Penetrance. *Parkinsons Dis* [Internet]. Hindawi; 2018 Mar 7 [cited 2018 Aug 16];2018:1–8. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/pd/2018/8684906/>
42. Kachroo S. Parkinson's Disease and Mitochondrial Gene Expression Kachroo S * [Internet]. 2017 [cited 2018 Aug 16]. Available from: https://www.semanticscholar.org/paper/Parkinson-s-Disease-and-Mitochondrial-Gene-S-*/Kachroo/d453751e7fc89f8be35dfb200e2738a6271068c3

The treatment effect of probiotic *Bacillus coagulans* on male Parkinson's rats

Simindokht Mirzanaeni¹, **Bahareh Pakpour***¹, Majid Navabian²

¹ Department of Physiology, Faculty of Science, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Lorestan Province, Iran

² Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University Yadegar-e-Emam Khomeini Shahre Rey Branch, Shahre Rey, Tehran, Iran

Abstract

Parkinson's disease after Alzheimer's is the most common neurodegenerative disease. It is the second most commonly reported neurodegenerative disorder. To create an animal model of Parkinson's disease, the black dense component of rats in 6-hydroxy dopamine (6-OHDA) was unilaterally destroyed in a stereotactic device. After 3 weeks, in order to evaluate the degradation rate, intra-peritoneal rats were given apomorphine they received. The number of spins was counted for one hour after the injection. These rotations were the main parameter for diagnosis of Parkinson's disease in rats. After a month, they received probiotic treatment for one month. After this, once again, the apomorphine test was performed and the result was compared with the previous series. In the Parkinson's group who received probiotics, the number of spins from apomorphine injected significantly decreased compared with the Parkinson's group receiving probiotics ($p \leq 0.001$). In addition, Parkinson's group showed more rotation than the sham group. The results showed that, on the one hand, neurotoxin-6-hydroxy dopamine can cause Parkinson's formation in rats, with dopamine agonist injections rotate. Probiotics, on the other hand, can reduce the number of rotations and play a role in improving it. One of the main causes of Parkinson's disease is the imbalance between free radicals and antioxidants. The use of probiotics increases the antioxidants and reduces free radicals. Many studies have shown the role of dopamine receptor agitation in neurological disorders such as Parkinson's. According to the results of this study, the probabilistic probability of *Bacillus coagulans* with increasing dopamine expression led to improvement of neurological disorders and treatment of Parkinson's disease in rats. The black body is the main source of dopamine secretion that plays an effective role in controlling voluntary movements and coordination in musculoskeletal conditions. Regarding the fact that in this study, 6 hydroxy-dopamine degrading regions of the brain reduced the concentration of dopamine and created Parkinson's. Probiotics may improve the disease through the concentration of dopamine in other centers of the central nervous system.

Keywords: *Bacillus coagulans*, Parkinson's disease, probiotics, treatment and rats

* b_pakpour@yahoo.com