

## بررسی تأثیر باسیلوس برویس پروبیوتیک بومی ایران بر ترشح هورمون‌های تیروئیدی T3 و T4 در رت نر نژاد ویستار تحت شرایط استرس بی‌حرکتی مزمن

عفت عسگری مهر<sup>1</sup>، پروانه جعفری<sup>2</sup>، ندا اکبری<sup>3</sup>

1- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات اراک، مرکزی، ایران.

2- هیات علمی گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات اراک، مرکزی، ایران. [p-jafari@iau-arak.ac.ir](mailto:p-jafari@iau-arak.ac.ir)

تاریخ دریافت: 93/7/2 تاریخ پذیرش: 93/9/17

### چکیده

مقدمه و هدف: پژوهش‌ها نشان داده‌اند که استرس اثرات مختلفی بر سیستم درون‌ریز بدن دارد. قراردگیری در شرایط استرس‌زا موجب تغییر در سطوح هورمون‌های تیروئیدی می‌شود. با توجه به نقش پروبیوتیک‌ها در کاهش استرس، هدف از این مطالعه بررسی میزان اثرگذاری باسیلوس برویس، پروبیوتیک بومی ایران بر ترشح هورمون‌های T<sub>3</sub> و T<sub>4</sub> در رت‌های نر تحت شرایط استرس بی‌حرکتی مزمن است.

روش کار: در این مطالعه تجربی 32 سر رت نر نژاد ویستار با سن 4 هفته و وزن تقریبی 130-110 گرم انتخاب و به‌طور تصادفی در 4 گروه، 2 گروه کنترل منفی و مثبت و 2 گروه آزمون تقسیم‌بندی شدند. گروه کنترل منفی و مثبت روزانه 1 ml بافر PBS خنثی دریافت می‌کردند در حالی که گروه کنترل مثبت در طول 21 روز به مدت 15 دقیقه تحت شرایط استرس بی‌حرکتی مزمن قرار داده شدند. گروه‌های آزمون در طی مدت آزمون با بافر PBS حاوی پروبیوتیک به میزان گاوژ داده شدند در حالی که گروه آزمون 2 تنها در شرایط استرس قرار می‌گرفت. بعد از طی 21 روز، خون‌گیری از قلب رت‌ها انجام شد و بعد از تهیه سرم، میزان ترشح هورمون‌های T<sub>3</sub> و T<sub>4</sub> با استفاده از روش الایزا مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصله از این تحقیق نشان داد که استرس سبب کاهش معنی‌دار میزان هورمون T<sub>4</sub> از  $0/05071 \pm 0/0008921$  به  $0/0444 \pm 0/001288$  mg/dl می‌شود (P Value = 0/0008). در حالی که میزان هورمون T<sub>4</sub> در گروه آزمون 1 در مقایسه با گروه کنترل منفی تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P Value = 0/0854). میزان ترشح هورمون T<sub>4</sub> در گروه آزمون 2 نسبت به گروه کنترل مثبت و آزمون 1 به‌صورت معنی‌داری بیشتر بود (P Value < 0/001). بنابراین پروبیوتیک در شرایط استرس میزان ترشح هورمون T<sub>4</sub> را به‌صورت معنی‌داری افزایش می‌دهد. در مورد T<sub>3</sub> اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: باسیلوس برویس پروبیوتیک سطح ترشح هورمون T<sub>4</sub> را در شرایط استرس در رت‌ها افزایش می‌دهد. بنابراین نتایج این بررسی می‌تواند در به‌کارگیری باسیلوس برویس به‌عنوان یک عامل مؤثر در کنترل سطوح هورمون‌های تیروئیدی نقش مهمی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، استرس، هورمون‌های T<sub>3</sub> و T<sub>4</sub>، باسیلوس برویس.

### مقدمه

تیموس، بالا رفتن تعداد گلبول‌های قرمز و غیره باشد (4). در موجودات مختلف بی‌حرکتی حاد و مزمن به‌عنوان استرس تلقی می‌گردد که می‌تواند اثرات گوناگون بر فیزیولوژی جانوران در زمینه رشد و نمو و عملکرد فیزیولوژیک هیپوتالاموس، هیپوفیز، آدرنال و غده تیروئید داشته باشد (5، 6). غده تیروئید در زیر حنجره و جلوی نای قرار دارد. نام آن از کلمه یونانی به

استرس مجموعه واکنش‌هایی است که در پاسخ به عوامل فیزیکی، روانی و یا هر محرکی که باعث به هم خوردن هموئوستازی می‌شود به وجود می‌آید (2، 1). یکی از سیستم‌هایی که تحت تأثیر استرس قرار می‌گیرد سیستم هورمونی است (3). واژه استرس برای نخستین بار توسط کانون به‌کار رفت. پاسخ به استرس می‌تواند تغییرات قند خون و الکترولیت‌ها، چروکیدگی

پروبیوتیک‌ها با کاربرد در غذای حیوانات شناخته شدند (14). از جمله مزایای پروبیوتیک‌ها می‌توان به مواردی هم چون بهبود تعادل میکروفلور دستگاه گوارش، تحریک دستگاه ایمنی، درمان سندروم روده تحریک‌پذیر، خاصیت ضد سرطانی، درمان عدم تحمل لاکتوز و درمان اسهال اشاره کرد (15). برخی از تحقیقات نشان داده که مصرف پروبیوتیک‌ها به میزان کافی و منظم می‌تواند برای سلامت همه افراد در همه گروه‌های سنی مفید باشد و مانع از اتصال و جای‌گیری عوامل بیماری‌زای روده‌ای شوند (17، 16). با توجه به نقش پروبیوتیک‌ها در کاهش استرس هدف از این مطالعه بررسی میزان اثرگذاری باسیلوس برویس بر ترشح هورمون‌های T<sub>3</sub> و T<sub>4</sub> در رت‌های نر تحت شرایط استرس بی‌حرکتی مزمین است.

### مواد و روش‌ها

#### گروه‌بندی حیوانات

برای انجام این مطالعه 32 سر رت نر نژاد ویستار با سن 4 هفته و وزن تقریبی یکسان 130-110 گرم از دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، مرکز علوم حیوانات آزمایشگاهی تهیه شد. مکان نگهداری حیوانات در حیوان‌خانه دانشگاه آزاد اراک و حیوانات در شرایط 12 ساعت تاریکی - روشنایی و دمای 25±2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. قبل از انجام آزمایش، حیوانات با محیط حیوان‌خانه به مدت 14 روز در شرایط دسترسی آزاد به آب و غذا سازگار گردیدند. قفس‌های نگهداری حیوانات از جنس پلی‌کربنات با درپوش توری فلزی و شیشه آب‌خوری با درپوش فلزی بود و هفته‌ای سه بار پوشال‌های آن تعویض می‌شد. آب آشامیدنی مورد نیاز حیوانات از آب شرب شهری تأمین و تغذیه حیوانات خوراک مخصوص موش (غذای فشرده) بود که از شرکت خوراک دام و طیور "به پرور" تهیه شد. برای انجام

معنای سپر گرفته‌شده و یکی از بزرگ‌ترین غدد درون‌ریز است (وزن طبیعی آن در بزرگسالان 15 تا 20 گرم است) که خود از دو لوب مسطح و بیضی تشکیل شده که به وسیله یک تنگه در جلوی نای به یک دیگر متصل می‌شوند. تنگه تیروئید در مسیر بین غضروف تیروئید و بریدگی استرنال قرار دارد. لوب‌ها با دو کپسول بافت همبند در برگرفته می‌شوند. معمولاً چهار غده پاراتیروئید در سطح خلفی تیروئید یافت می‌شوند. هم چنین اعصاب حنجره‌ای راجعه به‌طور خلفی بین تیروئید و نای قرار گرفته است. ورید ژوگلار داخلی، عصب واگ و شریان کاروتید مشترکاً از بخش‌های مجاور مهم می‌باشند (7). هورمون‌های تیروئیدی شامل تیروکسین (T<sub>4</sub>) و تری‌یدوتیرونین (T<sub>3</sub>)، هورمون‌های آمینی هستند که توسط غده تیروئید ساخته شده و ترشح می‌گردند. ترشح تیروکسین که به مقدار بالا ترشح می‌شود و تری‌یدوتیرونین که بیشترین فعالیت را دارا است، توسط هورمون تحریک‌کننده غده تیروئید (TSH) کنترل می‌گردند. هورمون کلسی‌تونین نیز توسط غده تیروئید سنتز می‌شود. هورمون‌های تیروئیدی سبب افزایش سرعت متابولیسم و افزایش دمای بدن، افزایش سنتز پروتئین، افزایش حساسیت و پاسخ بدن به کاتکول آمین‌ها مانند آدرنالین شده و برای رشد سلول‌ها و اعضای بدن به‌ویژه در دوران جنینی و کودکی لازم و ضروری هستند. مقادیر بیش از حد و نیز ناکافی هورمون‌های تیروئیدی منجر به بیماری می‌شود (8-11). واژه پروبیوتیک به معنای برای زندگی از زبان یونانی مشتق شده است. پروبیوتیک‌ها ارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اثرات سودمندی در بدن به‌جای می‌گذارند که این امر به‌واسطه تنظیم و تعادل میکروفلور می‌باشد (13)، اولین سابقه مصرف پروبیوتیک‌ها مربوط به شیر تخمیر شده توسط انسان‌ها بود و پس از آن

اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری نمونه‌ها در 600 nm تعیین شد. سپس با استفاده از روش کشت سطحی و تعیین سریال رقت، تعداد باکتری‌های موجود در هر ml از محیط کشت در جذب نوری معین تعیین شد. برای گاوآژ کردن رت‌ها هر روز کشت تازه باکتری همانند قبل تهیه و تا رسیدن به جذب نوری تعیین شده از قبل، گرما گذاری صورت گرفت. سپس با استفاده از سانتریفیوژ با دور 6000 rpm به مدت 15 دقیقه سلول‌های باکتری از فاز مایع جدا گردیدند. پس از 3 بار شستشو با بافر PBS، سلول‌ها مجدداً در همان بافر سوسپانسیون شدند تا غلظت  $2 \times 10^9$  cfu/ml حاصل شود. از این سوسپانسیون برای گاوآژ روزانه رت‌ها استفاده شد.

#### ایجاد استرس در رت‌ها

برای القای استرس بی‌حرکتی از دستگاه مخصوص نگه‌دارنده (restrainer) استفاده شد به نحوی که امکان حرکت برای حیوان وجود نداشت. طول این دستگاه متغیر بود به نحوی که همگام با بزرگ شدن حیوان، امکان افزایش اندازه دستگاه وجود داشت.

#### خون‌گیری از رت‌ها

در روز 21 بعد از بی‌هوشی حیوانات با اتر، بلافاصله خون‌گیری از قلب حیوان 5 ml خون تهیه و در لوله‌های کدگذاری شده ریخته شد. لوله‌ها در 5000 rpm در دمای 4- درجه سانتی‌گراد به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم آن‌ها جدا و در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. برای اندازه‌گیری میزان هورمون‌های تیروئیدی  $T_3$  و  $T_4$  از کیت "اتوبیو" ساخت کشور ایتالیا و برای اندازه‌گیری میزان قند خون از کیت "پارس آزمون" ساخت ایران استفاده شد. جذب نمونه‌ها با دستگاه الیزا ریدر در طول موج 630 nm اندازه‌گیری شد.

روش اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئیدی با کیت

اتوبیو

آزمون، رت‌ها پس از طی کردن دوره سازگاری به صورت تصادفی در 4 گروه 8 تایی گروه بندی شدند. گروه‌ها عبارت بودند از:

گروه کنترل منفی: این گروه روزانه 1ml از بافر PBS با 7/2 pH را دریافت می‌نمود

گروه کنترل مثبت: این گروه روزانه 1 ml از بافر PBS دریافت می‌نمود و به مدت 15 دقیقه نیز استرس بی‌حرکتی مزمن (Chronic Restraint Stress :CRS) داده می‌شد.

گروه آزمون 1: این گروه روزانه 1 ml از بافر PBS حاوی  $2 \times 10^9$  cfu/ml از پروبیوتیک را به صورت گاوآژ دریافت می‌نمود.

گروه آزمون 2: این گروه علاوه بر دریافت پروبیوتیک، استرس روزانه نیز دریافت می‌کرد.

در مراحل مختلف کار ضمن رعایت مسائل اخلاقی سعی شد از هرگونه آزار جسمی و روش غیرضروری اجتناب گردد. رت‌ها در ابتدا و انتهای آزمون با استفاده از ترازو با دقت 0/001 gr وزن شدند تا میزان افزایش وزن در زمان اجرای آزمایش در گروه‌های مختلف بررسی شود.

#### تهیه باکتری پروبیوتیک

برای انجام این تحقیق باسیلوس برویس به صورت لیوفیلیزه از شرکت تک ژن تهیه شد. باکتری در محیط کشت Nutrient Broth کشت داده شد و به مدت 48 ساعت در شیکرانکوباتور با دمای 37 درجه سانتی‌گراد و دور 150 rpm گرماگذاری شد. برای تهیه استوک گلیسرول از باکتری‌ها، هم‌حجم باکتری گلیسرول استریل به محیط مایع افزوده و پس از اختلاط کامل در فریزر 20- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید. برای تهیه کشت تازه از باکتری روزانه 200 ml از محیط کشت Nutrient Broth تهیه و پس از تلقیح در شرایط قبل گرما گذاری شد. پس از سپری شدن دوره رشد با

## آماده‌سازی

برای اندازه‌گیری میزان هورمون، کیت یک ساعت قبل از انجام آزمایش در دمای اتاق قرار داده شد ( $20-27^{\circ}\text{C}$ ). بعد از آماده‌سازی کونژوگه، محلول آماده به وسیله ورتکس به مدت 1 دقیقه کاملاً مخلوط شد. محلول شست‌وشو به میزان 1:40 با آب مقطر رقیق و خوب مخلوط گردید. محتویات دو ویال کنترل، 5 دقیقه قبل از مصرف هر کدام با 0/1 ml محلول آب مقطر رقیق و خوب تکان داده شد. قبل از شروع آزمایش، تمامی مواد نمونه‌ها به درجه حرارت اتاق رسیدند. برای سنجش 50 میکرولیتر از ویال استاندارد، سرم مورد آزمون به داخل هر چاهک اضافه و 100 میکرولیتر از محلول کونژوگه آماده شده به هر چاهک افزوده گردید. پلیت 30 ثانیه به آرامی تکان داده تا مخلوط سرم و کونژوگه کاملاً همگن شد. چاهک‌ها را با چسب مخصوص پلیت پوشانده و پلیت به مدت 60 دقیقه در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از گرم‌گذاری، محتویات چاهک‌ها خالی و چاهک‌ها 5 بار، هربار با 350-300 میکرولیتر محلول شستشوی آماده شده شسته شدند. در مرحله بعد 100 میکرولیتر سوبسترا به هر چاهک اضافه و پلیت به مدت 20 دقیقه در اتاق و در تاریکی انکوبه و با اضافه کردن 50 میکرولیتر محلول متوقف کننده به هر چاهک، ادامه واکنش‌های آنزیمی متوقف شد. در نهایت جذب نوری هر چاهک به کمک دستگاه الیزا ریدر با فیلتر 630 به‌عنوان فیلتر رفرنس تعیین گردید.

## تحلیل آماری

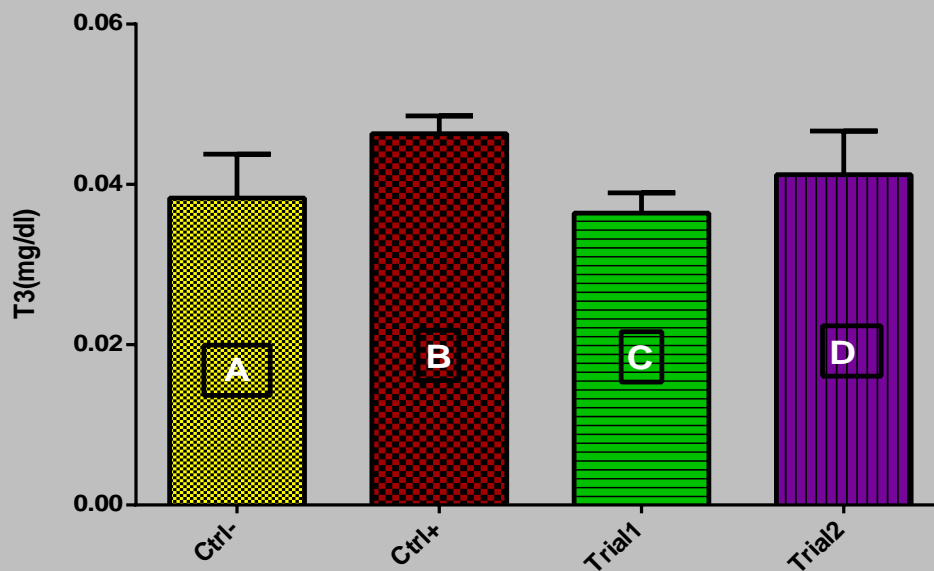
برای تفسیر داده‌ها و اطلاعات به‌دست‌آمده از نرم‌افزار 5 Graphpad Prism و آزمون‌های آماری t-test و Anova یک‌طرفه استفاده شد.

## نتایج

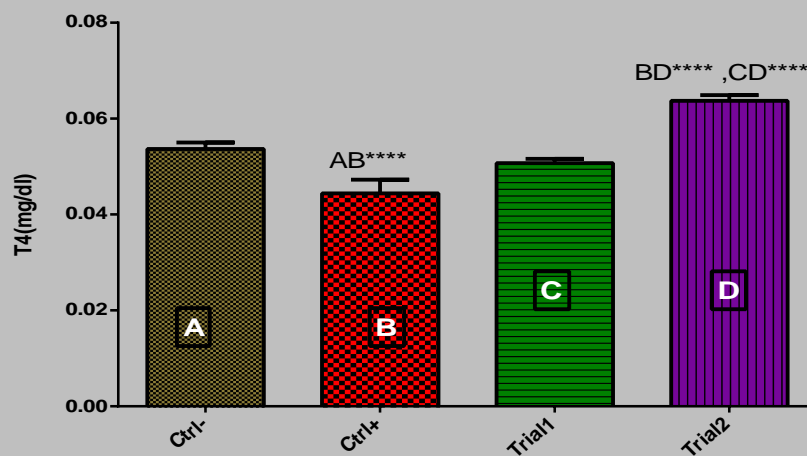
همان‌طور که گفته شد در طی این تحقیق 32 رت نر نژاد ویستار در 4 گروه به صورت تصادفی تقسیم‌بندی شد. پس از 21 روز آزمون میزان هورمون‌های T3 و T4، قند خون و میزان افزایش وزن رت‌ها تعیین شد.

**تغییرات سطح هورمون T<sub>3</sub>:** نتایج حاصل نشان داد که میزان ترشح هورمون T3 در گروه‌های مختلف این آزمون در تمامی شرایط یکسان بوده و تفاوت معنی داری با یک دیگر نداشتند. به عبارت دیگر میزان این هورمون در دو گروه کنترل یکسان بود ( $P = 0/2284$ ). هم چنین نتایج نشان داد که مصرف پروبیوتیک نیز تاثیری در میزان ترشح این هورمون تیروئیدی نداشته و میزان ترشح هورمون T3 در گروه آزمون 1 تفاوت معنی‌داری با گروه‌های کنترل منفی و آزمون 2 نبود ( $P \text{ Value} = 0/4019$ ) (نمودار 1).

**تغییرات سطح هورمون T<sub>4</sub>:** نتایج به‌دست‌آمده حاکی از آن بود که استرس سبب معنی‌دار بودن میزان ترشح هورمون T4 در گروه کنترل مثبت نسبت به گروه کنترل منفی شده بود ( $P \text{ Value} = 0/0008$ ). اما مصرف پروبیوتیک در گروه آزمون 2 سبب گردید که کاهش میزان هورمون در گروه آزمون 2 در شرایط استرس ممانعت شود و سطح هورمون با مصرف پروبیوتیک در شرایط استرسی در حد طبیعی باقی مانده بود ( $0/001$ ). در حالی که در شرایط بدون استرس، سطوح هورمونی با مصرف پروبیوتیک تغییر نیافته و اختلاف معنی‌داری بین گروه آزمون 1 و کنترل منفی دیده نگردید ( $P \text{ Value} = 0/0854$ ) (نمودار 2).



نمودار 1- اثرگذاری باسیلوس برویس، پروبیوتیک بومی ایران بر میزان هورمون T3 در تیمارهای مختلف



نمودار 2- اثرگذاری باسیلوس برویس، پروبیوتیک بومی ایران بر میزان هورمون T4 در تیمارهای مختلف

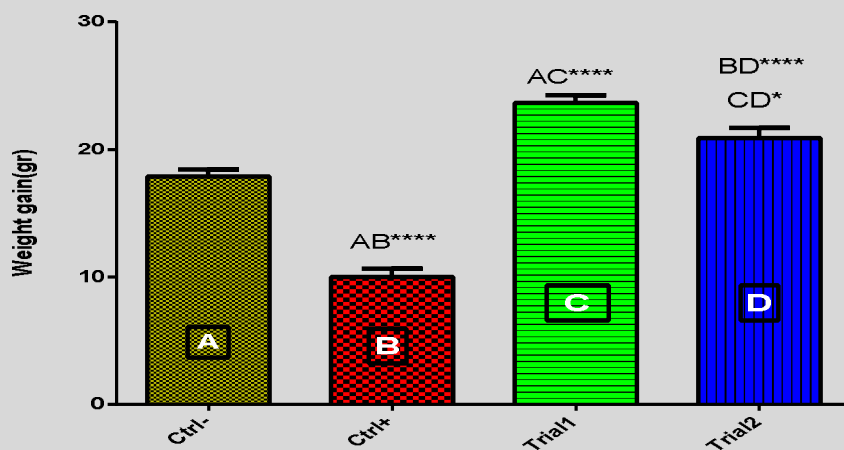
### افزایش وزن

پروبیوتیک در حیوانات سبب افزایش بازدهی راندمان غذایی شده بود به نحوی که در گروه آزمون 1 میزان افزایش وزن بسیار بیشتر از گروه کنترل منفی بود (P Value < 0/001). در گروه آزمون 2 نیز مصرف پروبیوتیک توانسته بود اثرات منفی استرس در عدم

نتایج حاصله نشان داد که استرس از افزایش وزن حیوانات در طی دوره آزمون به صورت معنی داری ممانعت کرده است به نحوی که موش های گروه کنترل در انتهای آزمون وزن کمتری نسبت به گروه کنترل مثبت داشتند (P Value < 0/001). مصرف

به واسطه وجود استرس میزان افزایش وزن حیوانات همانند گروه آزمون 1 که پروبیوتیک را بدون استرس دریافت کرده بودند، نبود ( $P = 0/0194$ ) (Vauel) (نمودار 3).

افزایش وزن حیوان را خنثی کند به نحوی که این گروه اختلاف معنی داری با گروه کنترل مثبت دریافت کننده استرس به لحاظ افزایش وزن داشت ( $P < 0/001$ ) (Value). البته لازم به ذکر است که در گروه آزمون 2



نمودار 3- اثرگذاری باسیلوس برویس، پروبیوتیک بومی ایران بر میزان وزن موش‌ها در تیمارهای مختلف

داده استرس بی‌حرکتی در طولانی مدت تأثیری بر سطح هورمون‌های T3 و T4 ندارد. هم‌راستا با این نتایج مطالعات دیگری انجام شده است که نشان می‌دهد استرس طولانی مدت تأثیری بر سطوح ترشحی هورمون‌های تیروئیدی سرم خون ندارد. ولی پژوهش‌های دیگری در این زمینه وجود دارند که نشان‌دهنده کاهش سطح سرمی هورمون‌های تیروئیدی در شرایط استرس بی‌حرکتی مزمن باشد (21-23). این احتمال وجود دارد که عدم تأثیر استرس بی‌حرکتی مزمن بر روی هورمون‌های تیروئیدی بیان‌گر سازش فیزیولوژیک حیوان با استرس بی‌حرکتی مزمن باشد. در همین راستا مطالعات دیگر نشان می‌دهد که اگر استرس‌ها به صورت مزمن اعمال گردند، امکان سازش نمونه‌ها با استرس پدید آمده و از این نظر اثرات محرک را خنثی می‌کند. اما در واقع به واسطه تنوع استرس‌های موجود در زندگی واقعی، امکان سازش با

### بحث و نتیجه‌گیری

رویارویی با شرایط استرس‌زا باعث ایجاد اختلالاتی در سطح سرمی هورمون‌های تیروئیدی می‌شود که با مشکلاتی اعم از پرکاری و کم‌کاری تیروئید همراه است. اختلال در سطوح این هورمون‌ها، اثرات مخربی از جمله تغییر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها را ایجاد می‌کند که با افزایش قند خون، زمینه را برای ابتلا به دیابت فراهم می‌نماید. هم‌چنین ارتباط بین پوکی استخوان و هورمون‌های تیروئیدی به اثبات رسیده است (18، 19). تاکنون مطالعات کمی در ارتباط با تأثیر عوامل استرس‌زا روی روند ترشح و متابولیسم هورمون‌های تیروئید و هم‌چنین تغییرات ایجاد شده بر روی اندام‌های هدف صورت گرفته است (20). پژوهش‌ها نشان می‌دهند که عملکرد محور هیپوفیز- تیروئید در موش‌های صحرایی طی زمان 2-15 دقیقه بی‌حرکتی افزایش می‌یابد (21). تحقیقی دیگر نشان

هنگام استرس به وضوح مشخص است که از کاهش میزان T4 ممانعت به عمل می آورد. این امر ناشی از اثر این پروبیوتیک بومی بر استرس و شرایط حاد ناشی از آن است. از سوی دیگر مشاهده شد که استرس از افزایش وزن حیوانات در طی دوره آزمون به شدت جلوگیری می نماید ولی باسیلوس برویس از کاهش شدید وزن حیوان در شرایط استرس جلوگیری کرده و حتی در حیوانات، بدون استرس نیز سبب افزایش وزن می گردد. به نظر می رسد این باکتری برای افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل غذایی در حیوانات مفید است به نحوی که می تواند راندمان تولید را افزایش دهد. در مجموع مصرف این باکتری علاوه بر ارتقای سطح ایمنی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری زا، می تواند در افراد درگیر با اختلالات عملکرد هورمون های تیروئیدی ناشی از استرس مورد استفاده قرار گیرد. از این رو پس از انجام آزمایش های بالینی می توان مصرف این باکتری را به عنوان یک فرآورده فراسودمند پیشنهاد کرد.

استرس برای موجود میسر نیست از این رو این استرس ها می توانند سطوح هورمون های تیروئیدی را تحت تاثیر قرار داده و اثرات مخرب متابولیسمی را در پی داشته باشند (21-24). با توجه به اندک و ناچیز بودن تحقیقات در مورد اثرات پروبیوتیک بر عملکرد هورمون های تیروئیدی در شرایط استرس، انجام چنین تحقیقاتی به جهت تنظیم سازوکارهای فیزیولوژی، ضروری به نظر می رسد. در این تحقیق حیوانات در معرض استرس بی حرکتی مزمین قرار داده شدند و نتایج نشان داد که پس از گذشت 21 روز، میزان ترشح هورمون T3 در رت ها در شرایط استرس طبیعی بوده و تغییری در میزان آن ایجاد نمی شود. این امر می تواند ناشی از سازش حیوان در طی این دوره 21 روزه با استرس بی حرکتی به کار رفته باشد. اما میزان هورمون T4 در طی این دوره در نتیجه استرس به صورت چشم گیری کاهش یافته بود که می تواند سبب تغییرات متابولیسمی شود. مصرف پروبیوتیک در حالت عادی تغییر بر میزان این هورمون های تیروئیدی نداشته ولی به

### منابع

1. Aguilera, G., Kiss, A., Sunar-Akbasak, B. (1995). Hyperreninemic hypoaldosteronism after chronic stress in the rat. *Journal of Clinical Investigation*, 96(3); 1512.
2. Ali, A.A. (2004). Effects of soybean isoflavones, probiotics, and their interactions on lipid metabolism and endocrine system in an animal model of obesity and diabetes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 15(10); 583-590.
3. Ali, A.A. (2005). Modulation of carbohydrate metabolism and peptide hormones by soybean isoflavones and probiotics in obesity and diabetes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(11); 693-699.
4. Anisman, H., Zacharko, R.M. (1986). Behavioral and neurochemical consequences associated with stressors. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 467(1); 205-225.
5. Awaisheh, S. (2013). Effect of supplementation of probiotics and phytosterols alone or in combination on serum and hepatic lipid profiles and thyroid hormones of hypercholesterolemic rats. *Journal of dairy science*, 96(1); 9-15.
6. Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*, 1-66.
7. Boylston, T.D. (2004). Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and Rewards. *International Dairy Journal*, 14(5); 375-387.
8. Braverman, L.E., Cooper, D. (2012). *Werner & Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text.*: Lippincott Williams & Wilkins.
9. Burkhart, J.M., JOWSEY, J. (1969). Parathyroid and thyroid hormones in the development of immobilization osteoporosis. *Endocrinology*, 81(5); 1053-1062.
10. Fioramonti, J., Theodorou, V., Bueno, L. (2003). Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? *Best Practice*

- & Research Clinical Gastroenterology, 17(5); 711-724.
11. Ganong, W.F., Barrett, K.E. (2005). Review of medical physiology. Vol. 22. McGraw-Hill Medical ^ eNew York New York.
12. Gill, H., Guarner, F. (2004). Probiotics and human health: a clinical perspective. Postgraduate Medical Journal, 80(947); 516-526.
13. Kar, A., Panda, S., Bharti, S. (2002). Relative efficacy of three medicinal plant extracts in the alteration of thyroid hormone concentrations in male mice. Journal of ethnopharmacology, 81(2); 281-285.
14. Langer, P. (1983). Immediate increase of thyroid hormone release during acute stress in rats: effect of biogenic amines rather than that of TSH? Acta endocrinologica, 104(4); 443-449.
15. McCombs, J.S. (2004). Compliance with drug therapies for the treatment and prevention of osteoporosis. Maturitas, 48(3); 271-287.
16. Mohammadi, F. (2013). Probiotics in human health. European Journal of Experimental Biology, 3(2); 116-120.
17. Nithya, K. (2012). Characterization of bacteriocin producing lactic acid bacteria and its application as a food preservative. African Journal of Microbiology Research, 6(6); 1138-1146.
18. Rolfe, R.D. (2000). The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. The Journal of Nutrition, 130(2); 396S-402S.
19. Schedlowski, M., Schmidt, R.E. (1996). Stress und immunsystem. Naturwissenschaften, 83(5); 214-220.
20. Selye, H. (1946). The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation 1. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 6(2); 117-230.
21. Tennant, C., Langeluddecke, P., Byrne, D. (1985). The concept of stress. Australian and New Zealand Journal of Psychiatry, 19(2); 113-118.
22. Turakulov, I., Burikhanov, R. (1992). Role of norepinephrine in the regulation of thyroid gland functional activity in rabbits. Problemy endokrinologii, 39(4); 45-48.
23. Turakulov, Y.K. (1994). Influence of immobilization stress on the level of secretion of thyroid hormones. Neuroscience and behavioral physiology, 24(6); 462-464.
24. Wright, S. (1932). Applied physiology.



Archive