

بررسی تاثیر باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس T₄ جدا شده از لبنیات سنتی استان مرکزی بر میزان هورمون کورتیکوسترون در موش نر نژاد ویستار

عادل عابدی^۱، پروانه جعفری^۲، محسن زرگر^۱

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

۲- استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک، اراک، ایران. Parvaneh.jafari@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۲۵

چکیده

مقدمه و هدف: پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی زنده می‌باشند که با بهبود تعادل میکروبی روده، اثرات مفیدی بر روی میزبان (انسان یا حیوان) اعمال می‌کنند و غالباً به صورت مکمل‌های غذایی و یا دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند در تعدیل سیستم ایمنی، کاهش کلسترول سرمی، کاهش عفونت‌های گوارشی، کاهش احتمال ابتلا به سرطان، کاهش آلرژی‌های پوستی و غذایی در اطفال نقش داشته باشند. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس T₄ جدا شده از لبنیات سنتی استان مرکزی بر میزان هورمون کورتیکوسترون در موش نر نژاد ویستار است. روش کار: در این پژوهش با استفاده از ۴۰ سر موش نر نژاد ویستار با وزن ۱۵۰-۱۷۰ گرم و متوسط سن ۴ هفته که به طور روزانه تحت استرس‌های مزمن و حاد قرار داشتند، میزان تاثیر لاکتوباسیلوس T₄ جدا شده از لبنیات سنتی استان مرکزی بر روی مقدار هورمون‌های استرس در موش مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. یافته‌ها: نتایج نشان داد استفاده از این لاکتوباسیلوس پروبیوتیک به طور معنی داری موجب کاهش میزان کورتیکوسترون در موش می‌گردد ($P < 0/05$).

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس، موش نژاد ویستار، استرس.

مقدمه

پروبیوتیک‌ها از ابتلا به حساسیت‌های پوستی و غذایی در اطفال، برخی عفونت‌های باکتریایی، زایمان زودرس، بیماری التهابی روده، عفونت‌های رایج مثانه و گوش، خرابی دندان‌ها، اسهال مزمن و اسهال مسافرتی جلوگیری می‌کند. حتی معلوم شده این باکتری‌ها باعث کاهش میزان کلسترول خون شده و با کاهش مواد سرطان‌زا، از بعضی سرطان‌های خاص هم جلوگیری می‌نماید (۱۵). مشاهده شده است که مصرف دائم پروبیوتیک‌ها در کاهش میزان بروز بیماری‌های مختلف موثر است که این تاثیر در جمعیت‌های دارای خطر بالا مانند کودکان بستری در بیمارستان‌ها، کودکانی که شیر مادر مصرف نمی‌کنند یا در شرایط محروم به سر می‌برند بارزتر است. فرآورده‌های

باکتری‌های پروبیوتیک میکروارگانیسم‌های زنده و مشخصی هستند که در صورت مصرف در انسان و یا حیوان با اثر بر روی فلور میکروبی بدن نقش مفیدی بر سلامتی میزبان داشته و با تغییر فلور میکروبی روده نقش مهمی به عنوان مکمل در بدن ایفاء می‌نمایند (۳). فرآورده‌های پروبیوتیکی حاوی باکتری‌هایی هستند که پس از مصرف در ناحیه روده ساکن می‌شوند و اثرات مفیدی در سلامتی میزبان بر جای می‌گذارند. اصطلاح پروبیوتیک به معنی «برای زندگی» است و سازمان جهانی بهداشت، این اصطلاح را به «ارگانیسم‌های زنده‌ای» اطلاق می‌کند که در صورت مصرف به میزان لازم، اثرات «سلامت‌زایی» موثری برای میزبان خود داشته باشند. مطالعات نشان می‌دهد که مصرف

حد چشمگیری مختل می‌گردند (۱۷). استرس بی- حرکتی حاد باعث افزایش سطح گلوکوکورتیکوئیدها در پلازما شده و این مواد با استیلایسون هیستون‌ها باعث شل شدن ساختار کروماتین می‌گردند. تاثیر بر مکانیسم‌های سلولی و ایجاد اختلال در مسیرهای تکثیر و تقسیم سلول می‌تواند منجر به ایجاد ناهنجاری‌های ژنتیکی در سلول‌های دختری حاصل گردد (۱۶). دیده شده است که اثرهای پس از استرس بستگی زیادی به سن دارد به طوری که در زمان قبل از بلوغ که مکانیسم‌های تنظیمی نورواندوکرین کامل نشده اند و مدارهای نورونی هنوز نیاز به تکمیل شدن دارند، استرس مزمن می‌تواند سبب ایجاد تغییرات دائم یا گذرا در وضعیت فیزیولوژی و روانی شود (۸). محرک‌های مختلف عمدتاً پاسخ‌های مشابهی را موجب می‌شوند که شامل تغییراتی در رفتار، عملکرد سیستم اتونومیک، ترشح چندین هورمون از جمله آدرنو کورتیکوتروپین از غده هیپوفیز، کورتیزول و کاتکول آمین‌های مغز و غده فوق کلیوی می‌باشد (۱۲). استرس، ترشح هورمون آدرنو کورتیکوتروپیک (ACTH) را از غده هیپوفیز افزایش می‌دهد که این هورمون غده‌ی فوق کلیه را تحریک کرده و باعث ترشح هورمون‌های استروئیدی می‌شود. یکی از این هورمون‌ها کورتیزول است که سنتز پروتئین‌های مختلف و هم‌چنین سنتز آنزیم‌های موثر در متابولیسم چربی‌ها را تسریع می‌نماید. پس از یک دوره‌ی کوتاه مدت استرس، سنتز چربی‌ها تسریع شده و گاهی شخص بیشتر غذا می‌خورد و چاق می‌شود (۶). هدف این پژوهش بررسی میزان تاثیر لاکتوباسیلوس T₄ بر میزان آزاد شدن هورمون کورتیزول از غدد فوق کلیوی موش نر نژاد ویستار تحت شرایط استرس‌های حاد و مزمن می‌باشد.

پروبیوتیکی در بازار تجاری به اشکال قرص، کپسول، پودر ماست‌های غنی شده، شیر و پنیر به فروش می‌رسد. اغلب پروبیوتیک‌هایی که تاکنون مورد مطالعه قرار گرفته‌اند یا در بازار موجودند، ایمن هستند و در هزاران نفر از افرادی که تاکنون مصرف این فرآورده‌ها را گزارش کرده‌اند هیچ گونه عارضه جانبی آشکاری از خود نشان نداده‌اند (۱۴). استرس باعث القای پاسخ فیزیولوژیکی می‌گردد که بر روی سیستم عصبی مرکزی و سیستم عصبی خودمختار موثر شده و در نتیجه بر روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) تاثیر می‌گذارد و باعث فعال سازی تغییراتی در سیستم اندوکرین بدن می‌گردد که این تغییرات می‌تواند فراهم کننده اختلالات در سیستم ایمنی و هم-چنین بر فرآیندهای سلولی گردد. استرس‌ها می‌توانند به صورت ضربه الکتریک، استرس‌های شیمیایی و رویارویی با جانوران صیاد و یا روش‌هایی مانند ایجاد استرس‌های مصنوعی توسط تزریق برخی داروها مانند مسکن‌ها و مخدرها و یا جعبه ارتباطی و یا مجبور کردن جاندار به شنا در دمای پایین آب و یا به صورت بی حرکت نگه داشتن جاندار باشد (۱). استرس فیزیولوژیکی حتی در مدت زمان کوتاه باعث تحریک هیپوکامپ شده که این مساله باعث تولید آرژنین، وازوپرسین و عامل آزادسازی گلوکوکورتیکوتروپین می‌گردد. این عامل خود باعث آزاد سازی آدرنو کورتیکوتروپین از هیپوفیز قدامی شده که این ماده کورتکس آدرنال را تحریک به تولید گلوکورتیکوئیدها می‌کند. این مواد باعث سرکوب مکانیسم‌های دفاعی بدن می‌شوند (۱۰). استرس بی حرکتی به صورت حاد منجر به افزایش مقدار ترشح گلوکورتیکوئیدها گردیده در نتیجه حیوان از حالت طبیعی به دور می‌ماند زیرا سیستم‌های متابولیک مربوط به استفاده از پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها به

مواد و روش ها

در این تحقیق از ۴۰ سررت نر نژاد ویستار، تهیه شده از انستیتو پاستور با سن تقریبی ۴ هفته و وزن تقریبی ۱۵۰-۱۷۰ گرم استفاده شد. حیوانات در حیوان خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک در دمای $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ، رطوبت $50 \pm 5\%$ و ۱۲ h تاریکی و روشنایی نگهداری شدند و در طی تمامی مراحل آزمایش دسترسی آزاد به آب و غذا (خوراک دام شرکت به پرور کرج) داشتند. لازم به ذکر است که تمامی آزمایشات با توجه به دستورالعمل‌های جهانی نگهداری حیوانات انجام شد (۵). رت‌ها پس از گذراندن دوره سازگاری، به صورت تصادفی در ۵ گروه ۸ تایی زیر گروه‌بندی شدند:

- ۱- گروه شاهد منفی: بدون پروبیوتیک و ایجاد استرس حاد در آخرین روز آزمون
- ۲- گروه شاهد مثبت: همراه با استرس مزمن روزانه و بدون پروبیوتیک
- ۳- گروه آزمون ۱: دریافت پروبیوتیک T4 و دریافت استرس حاد در آخرین روز آزمون
- ۴- گروه آزمون ۲: دریافت پروبیوتیک T4 همراه با استرس مزمن روزانه
- ۵- گروه کنترل

آماده سازی پروبیوتیک‌ها برای گاوآژ

برای تهیه سوسپانسیون پروبیوتیک به منظور گاوآژ رت‌ها، سوبه T4 در MRS Broth کشت و در انکوباتور CO_2 دار در دمای 37°C به مدت ۴۸ h گرماگذاری شدند. پس از تکمیل رشد، سلول‌ها با سانتریفوژ جدا و پس از ۳ بار شستشو با بافر فسفات، مجدداً در محلول فریز درایر شامل ۱۲٪ پودر آب پنیر و ۲٪ گلوکز سوسپانسیون شدند. سوسپانسیون سلولی در شرکت تک ژن با استفاده از دستگاه فریزدرایر خشک و در یخچال نگهداری گردید. در مرحله بعد

تعداد سلول‌ها در هر گرم از پودر خشک تعیین شد. برای این منظور تعداد ۱۵ لوله حاوی ۹ ml سرم فیزیولوژی استریل شد. سپس ۱ gr از پودر خشک به اولین لوله افزوده و پس از اختلاط، ۱ ml از لوله اول به لوله بعدی منتقل و بدین ترتیب سریال رقت تهیه شد. ۱ ml از هر سریال رقت به دو پلیت حاوی MRS منتقل و با استفاده از لوله شیشه‌ای سر کج به خوبی پخش شد. پس از گرماگذاری پلیت‌هایی که بین ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی داشتند شمارش شدند و بدین ترتیب تعداد باکتری‌ها در هر گرم از پودر خشک فریزدرای شده تعیین شد.

گاوآژ کردن رت‌ها

برای گاوآژ کردن رت‌ها هر روز مقدار مشخصی از پودر فریزدرای باکتری در حجم مشخصی از بافر فسفات با pH خنثی سوسپانسیون شد تا 10^9 cfu/ml حاصل گردد. سپس رت‌های گروه آزمون به مدت ۳۰ روز با ۱ ml از این سوسپانسیون به صورت دهانی گاوآژ شدند. گروه‌هایی از رت‌ها که پروبیوتیک دریافت نمی‌کردند نیز هر روز با ۱ ml از بافر فسفات به عنوان دارونما گاوآژ شدند. گاوآژ دهانی با استفاده سرنگ مخصوص گاوآژ صورت گرفت. سوزن گاوآژ در اندازه‌های مختلف وجود دارد. انتخاب سوزن مناسب اهمیت زیادی دارد که این مقدار معمولاً برابر است با فاصله بینی تا اولین دنده حیوان. برای گاوآژ، رت به حالت مستقیم نگاه داشته شد و سرسوزن از فاصله بین دندان‌های پیشین و آسیاب چپ وارد دهان شد و به آرامی به طرف پائین هدایت شد (شکل ۱). با رسیدن لوله تغذیه کننده به حلق، معمولاً رت‌ها عمل بلع را انجام می‌دهند و این کار ورود لوله را به داخل مری آسان می‌کند. پس از ورود کامل سوزن گاوآژ، باکتری‌ها وارد معده حیوان گردیده و پس از پایان کار از سلامت عمومی حیوان اطمینان حاصل شد.

ایجاد استرس در رت‌ها

بیهوش گردیدند (شکل ۳). سپس به کمک سرنگ‌های استریل ۵ ml خون گیری از قلب رت‌ها به عمل آمد (شکل ۴). خون گرفته شده در لوله‌های آزمایش کدگذاری شده ریخته و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند تا لخته شوند. پس از لخته شدن با سانتریفوژ با دور ۱۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه، سرم خون جدا شد. سپس سرم جدا شده به کمک سر سمپلرهای استریل در میکروتیوپ‌های کدگذاری شده ریخته شد. سرم‌ها تا زمان اندازه گیری میزان کورتیکوسترون در -80°C نگهداری شدند. البته لازم به ذکر است که در پایان هفته دوم آزمون، میزان هورمون کورتیکوسترون گروه اول سنجیده شد. برای این منظور خونگیری از ورید دمی رت‌ها به میزان ۲ ml صورت گرفت (شکل ۵). در نهایت پس از خونگیری و جداسازی سرم خون موش‌ها اندازه گیری میزان کورتیکوسترون به روش الایزا و با استفاده از کیت مخصوص اندازه گیری کورتیزول خون موشی شرکت Biovendor (RTC002R) و توسط دستگاه ELIZA Reader مدل fax303state ساخت شرکت awarenss انجام پذیرفت.

برای ایجاد استرس از دستگاه نگهدارنده و ایجاد استرس بی حرکتی استفاده شد. نگهدارنده‌ها همگی از جنس پلکسی گلس شفاف و با قطر ۷/۵cm تهیه شدند که البته با توجه به تغییر اندازه موش‌ها در طول ۴ هفته آزمون، طول دستگاه‌ها متغیر و به ترتیب ۵، ۱۱، ۱۵ و ۱۷/۵ سانتی متر در نظر گرفته شد (شکل ۲). در طول ۴ هفته آزمون، دو نوع مختلف استرس بی حرکتی به شرح زیر مورد استفاده قرار گرفت:

استرس بی حرکتی مزمن یا CRS

برای ایجاد استرس بی حرکتی مزمن، رت‌ها در طی ۴ هفته آزمون روزانه به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه نگهدارنده قرار داده شدند.

استرس بی حرکتی حاد

برای ایجاد استرس بی حرکتی حاد، رت‌ها فقط یک بار و به مدت ۲ h در دستگاه نگهدارنده قرار داده شدند. پس از پایان چهار هفته و قرار دادن موش‌ها در وضعیت استرس‌های مزمن و حاد در نهایت همه موش‌ها با تزریق صفاقی ترکیب شیمیایی کتامین (به میزان ۷۵mg به ازای هر ۱۰۰۰g وزن موش) و زایلوزین (به میزان ۱۰mg به ازای هر ۱۰۰۰g وزن موش)



شکل ۱- نحوه گاوآژ دهانی موش‌ها



شکل ۲- نحوه ایجاد استرس در موش توسط دستگاه نگهدارنده



شکل ۳- بیهوش کردن حیوان با تزریق صفاقی



شکل ۴- خونگیری از قلب



شکل ۵- خونگیری از ورید دم

نتایج

تاثیر سویه T₄ بر وزن رت‌ها

موش‌های نر نژاد ویستار با سن تقریبی ۴ هفته با وزن 161 ± 8 gr بعد از پایان مدت زمان آزمون و بر اساس نوع گروه بندی به ترتیب دارای افزایش وزنی طبق جدول ۱ بودند. نتایج حاصله از این آزمون نشان می‌دهد که:

- استرس مزمن سبب کاهش وزن معنی دار گروه استرس نسبت به گروه کنترل می‌شود ($P=0/0003$).

- مصرف پروبیوتیک T₄ در شرایط معمولی بدون استرس سبب افزایش وزن معنی دار نسبت به گروه کنترل می‌شود ($P=0/0388$).

- در شرایط استرس مصرف پروبیوتیک T₄ از کاهش وزن معنی دار این گروه نسبت به سایر گروه‌ها ممانعت می‌کند ($P=0/9311$).

تاثیر سویه‌های T₄ بر کاهش مقدار هورمون استرس در رت‌ها

پس از اتمام آزمون مقدار هورمون کورتیکوسترون خون به روش ELISA اندازه‌گیری شد که در جدول ۲ آورده شده است. تحلیل نتایج حاصله از این آزمون نشان می‌دهد که:

- در گروه‌های استرس حاد، افزایش هورمون کورتیکوسترون نسبت به گروه کنترل معنی دار بود ($p<0001$).

- در گروه‌های استرس مزمن، افزایش هورمون کورتیکوسترون نسبت به گروه کنترل معنی دار بود ($p<0001$).

- در گروه‌های پروبیوتیک T₄ + استرس حاد کاهش میزان هورمون کورتیکوسترون نسبت به گروه کنترل اندکی معنی دار بود ($p=0/0261$).

- در گروه‌های پروبیوتیک T₄ + استرس مزمن کاهش میزان هورمون کورتیکوسترون نسبت به گروه کنترل معنی دار بود ($p=0/02981$).

بحث و نتیجه‌گیری

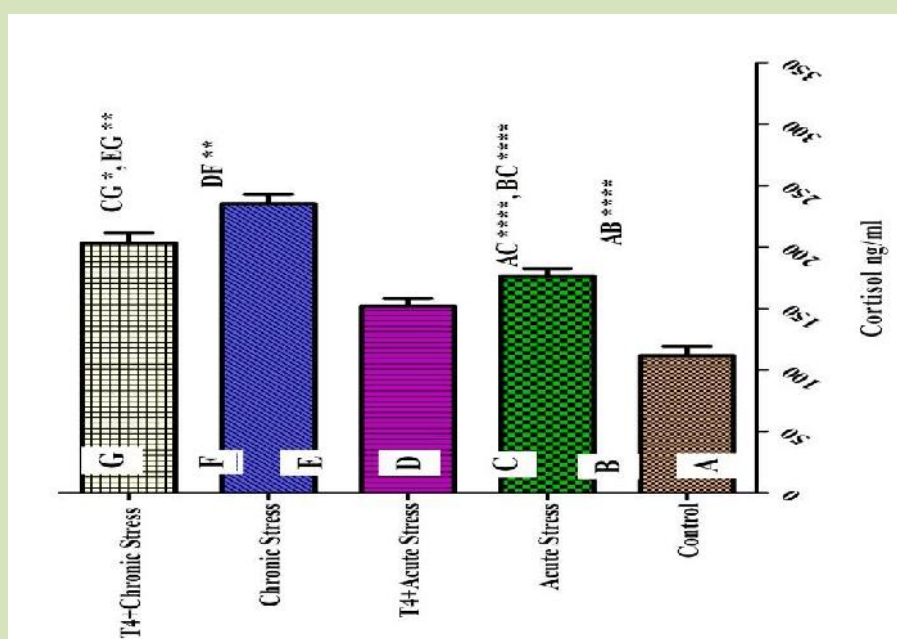
لاکتوباسیلوس فارسیمنیس سویه ای از باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد که نفوذ پذیری انتخابی سدهای روده ای را کاهش می‌دهد، بنابراین از طریق اثرات التهابی از عبور محصولات باکتریایی و ورود آن‌ها به جریان خون جلوگیری می‌نماید. این پروبیوتیک اثرات سودمندی بر روی سلامت دستگاه گوارش دارد.

جدول ۱- اثر پروبیوتیک بر میزان وزن موش ها پس از ۳۰ روز تیمار

وزن (gr)	گروه‌ها
۷۵/۱۳±۲/۶۵۴	کنترل
۵۴/۶۳±۳/۴۶۲	استرس مزمن
۸۸/۰۰±۶/۶۸۳	پروبیوتیک T4
۸۸/۸۸±۷/۸۷۰	پروبیوتیک T4+ استرس مزمن

جدول ۲- اثر پروبیوتیک بر میزان کورتیزول در موش ها پس از مدت یک ماه تیمار

میانگین کورتیکوسترون (ng/ml)	گروه‌ها
۱۱۱/۸±۷/۴۸۴	کنترل
۱۷۶/۶±۵/۸۸۵	استرس حاد
۲۵۳/۱±۷/۷۲۲	استرس مزمن
۱۵۲/۱±۵/۸۷۹	پروبیوتیک T4+ استرس حاد
۲۰۳/۵±۸/۲۹۴	پروبیوتیک T4+ استرس مزمن



نمودار ۱- تغییرات میانگین میزان کورتیکوسترون در نمونه‌های موش وistar نر در معرض استرس حاد و مزمن با و بدون گاواژ روزانه پروبیوتیک T4 با گروه کنترل پس از ۴ هفته.

مکانیسم این اتفاقات، به نظر می‌رسد محور روده ای - مغزی، میکروبیوتا نقش اصلی را دارد. روده می‌تواند پیام‌هایی را به سمت مغز بفرستد که برای مغز مفهومی است و نکته قابل تامل و جالب درگیر شدن میکروفلور روده ای در این ارتباط و نیز سهم و میزان دخالت

محققان به صورت روشن و غیر قابل انکاری در موش‌ها نشان داده اند که استفاده خوراکی از این باکتری برای مدت چند روز دردهای ناشی از نفخ کولون را کاهش می‌دهد و نیز موجب کاهش التهاب کولون‌ها می‌گردد. طبق آخرین مطالعات آنان روی

پروبیوتیک‌ها در ارتباط دو سویه روده و مغز می‌باشد. طی این پژوهش‌ها محققان توانایی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس فارسیمنیس را در تضعیف و تخفیف پاسخ‌های نورواندوکرین به استرس‌های القا شده از باکتری‌های پاتوژن را نشان دادند و به عنوان مکانیسم این اتفاق، پیشنهاد کردند که جلوگیری از افزایش در نفوذپذیری انتخابی روده و بنابراین محدودیت ورود به محیط داخلی لیپولی ساکاریدها که جزیی از دیواره سلولی باکتری‌های درون روده می‌باشد می‌تواند عامل این موضوع عنوان شود. نشان داده شده است که در جوندگانی مانند موش استرس‌های القا شده به وسیله باکتری‌های پاتوژن نتیجه فعال شدن محور هیپوتالامیک-هیپوفیزی و هم چنین افزایش در نفوذپذیری انتخابی روده و تاثیر نوروالتهایی ناحیه هیپوتالامیک (هیپوتالاموسی) مغز است، نتیجه مستقیم این اتفاق باز شدن اتصالات محکم است و سلول‌های اپی تلیال روده ای را به یک دیگر متصل می‌کند که نتیجه نهایی این موضوع افزایش ورود لیپولی ساکاریدها به جریان خون است. نشان داده شده است که افزایش میزان لیپولی ساکاریدها در جریان خون ارتباط مستقیمی با تاثیر استرس دارد. عملکرد این باکتری پروبیوتیک القای کاهش نفوذ پذیری انتخابی در حیوانات و نیز میزان بار موجود لیپولی ساکاریدها در جریان خون است بنابراین پاسخ به استرس را تعدیل و تنظیم می‌کند (۲). در تحقیق دیگری نشان داده شد، لاکتوباسیلوس کازئی سویه شیروتا نیز باعث بهبودی حالت روانی در رت‌ها می‌گردد (۴) و نیز منجر به کاهش میزان استرس و اضطراب در نمونه‌های مبتلا به سندروم خستگی مزمن می‌شود (۱۳). فعالیت طبیعی محور هیپوفیز-هیپوتالاموس-آدرنال به کمک تحریکات موثر روزانه تنظیم می‌گردد. هم چنین محرک‌های القا کننده استرس و دوره‌های خود

تنظیمی منفی مختلف به واسطه ترشح شدن هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین، هورمون آدرنو کورتیکوتروپین و به میزان بسیار گسترده‌ای به وسیله کورتیزول تنظیم می‌گردند (۱۱). مطالعات انجام شده طی ۳۰ روز مصرف لاکتوباسیلوس‌های پروبیوتیک نشان دهنده کاهش معنی دار در سطوح کورتیزول آزاد موجود در ادرار در نمونه‌هایی که به طور روزانه تحت استرس قرار داشتند می‌باشد. عملکرد این باکتری‌ها ممکن است به طور مثبت تغییر رفتار پرخاشگرانه و هیجانی مرتبط با استرس را در حیواناتی که تحت تاثیر استرس قرار دارند توجیه کند (۹). اگر چه در کنار همه این یافته‌ها هنوز هیچ مطالعه بالینی گزارش نشده است که به دنبال درمان خوراکی استرس‌های مزمن از طریق پروبیوتیک‌ها و خوراندن باکتری‌ها باشد اما در مطالعات پیش بالینی نشان داده شده است که میزان کورتیزول در بچه موش‌ها در پاسخ به گونه‌های لاکتوباسیلوس‌ها کاهش پیدا می‌کند (۷). به هر ترتیب، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در گروه استرس حاد میزان ترشح هورمون کورتیکوسترون به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است و استرس مزمن، سبب افزایش معنی دار ترشح هورمون در گروه استرس مزمن نسبت به گروه کنترل شده است. میزان ترشح هورمون در استرس مزمن به صورت معنی داری بیشتر از گروه دریافت کننده استرس حاد می‌باشد. میزان ترشح هورمون در گروه پروبیوتیک T₄ + استرس حاد به صورت معنی داری کمتر از گروه استرس حاد می‌باشد. ضمن آن که میزان ترشح هورمون در گروه پروبیوتیک T₄ + استرس مزمن به صورت معنی داری کمتر از گروه استرس مزمن می‌باشد. میزان ترشح هورمون در گروه پروبیوتیک T₄ + استرس حاد به صورت معنی داری کمتر از پروبیوتیک T₄ + استرس مزمن می‌باشد.

نویسندگان این مقاله از همکاری صمیمانه و مشاورت ارزشمند اساتید محترم هیات علمی میکروبیولوژی دانشگاه آزاد واحد قم کمال تقدیر و تشکر را دارند.

همه این نتایج نشان دهنده اثر مثبت پروبیوتیک‌ها بر کاهش مقدار هورمون استرس در موش‌های نر می‌باشد که با نتایج مطالعات دیگر هم خوانی دارد.

تشکر و قدردانی

منابع

1. Adamec, R. (2000). NMDA receptors mediate lasting increase in anxiety-like behavior produced by the stress of predator exposure-implications for anxiety associated with posttraumatic stress disorder. . *Physiology & Behavior*, 81; 115-120.
2. Ait-Belgnaoui, A. (2012). Prevention of gut leakiness by a probiotic treatment leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 11(37); 1885-1895.
3. Ambado, Y.G. (2004). Probiotic and technological properties of *Enterococci* Isolates from infants and cheese. *Food Biotechnology*, 18(3); 307-325.
4. Benton, D., Williams, C. Brown, A. (2006). Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61(3); 355-361.
5. Chrousos, G.P. (2009). Stress and disorders of the stress system. *Nature Reviews Endocrinology*, 5(7); 374-381.
6. Evanthia, D.K. (2011). Contemporary Aspects of Endocrinology,
7. Gareau, M.G. (2007). Probiotic treatment of rat pups normalises corticosterone release and ameliorates colonic dysfunction induced by maternal separation. *Gut*, 56(11); 1522-1528.
8. Janjua, B.A. (2008). Effects of acute immobilization stress on vermal cerebellar cortex of young male Rats. *medical forum monthly*,
9. Lowry, C.A. (2007). Identification of an immune-responsive meso limbocortical serotonergic system: potential role in regulation of emotional behavior. *Neuroscience*, 146(2);
10. McEwen, B.S. (2008). Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *European Journal of Pharmacology*, 583(2); 174-185
11. Munck, A., Guyre, P.M., Holbrook, N.J. (1984). Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrinology*, 5; 25-44.
12. Ottenweller, J.E., Natelson, B.H., Pitman, D.L. (1989). Adrenocortical and behavioral responses to repeated stressors: toward an animal model of chronic stress and stress-related mental illness. *Biological Psychiatry*, 26; 829-841.
13. Rao, A.V. (2009). A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathogens*, 1(1); 1-6. 772-756.
14. Saavedra, L. (2003). Homemade traditional cheeses for the isolation of probiotic *Enterococcus faecium* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 88(2); 241-245.
15. Stanton, C., Gardiner, G., Meehan, H. (2001). Market potential for probiotics. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73; 476-483.
16. Weissman, B.A. (2007). Testosterone production in mice lacking inducible nitric oxide synthase expression is sensitive to restraint stress. *American Journal of Physiological Endocrinology and Metabolism*,
17. Yildiz, A. (2007). Physiological profile of juvenile rats: effects of cage size and cage density. *Lab Animal* 36(2); 28-38.

