زیست‌شناسی جانوری، سال سیزدهم، شماره دوم، زمستان ۹۹، صفحات ۱۱۴- ۱۰۱

مقاله پژوهشی

تاثیر حفاظتی پروبیوتیک *Bacillus coagulance* بر ایجاد پارکینسون درموش‌های صحرایی نر

عطیه کاظم زاده، بهاره پاکپور*، ارس رفیعی

گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: b_pakpour@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۰۴

چکیده

بیماری پارکینسون یک اختلال نوروپاتولوژیک شایع است که به علت دژنراسیون نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه ایجاد می‌شود. هدف از مطالعه حاضر بررسی نقش پروبیوتیک *باسیلوس کواگولانس*، در اختلالات حرکتی ناشی از تزریق نوروتوکسین ٦-هیدروکسی دوپامین در مدل پارکینسون در موش صحرایی نر می‌باشد. در این مطالعه تجربی از ٤٨ سر موش-های صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰گرم استفاده شد. موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به ٦ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. در آزمایش اول دو گروه موش انتخاب شدند که یک گروه سالم بوده و گروه دوم توسط ٦-هیدروکسی دوپامین پارکینسونی شدند. در آزمایش دوم یک گروه از موش‌ها سالم بوده ، سه گروه دیگر پارکینسونی شدند که یک گروه از آنها یک ماه قبل از جراحی سالین گاواژ شد و دو گروه دیگر شیر، شیر و پروبیوتیک دریافت کردند. ایجاد مدل پارکینسونی از طریق ٦-هیدروکسی دوپامین به موش‌های صحرایی سبب القای رفتار خشن و اختلالات حرکتی شد. پیش تیمار موش‌های نر با پروبیوتیک *باسیلوس کواگولانس* به مدت یک ماه انجام شد و سپس پارکینسونی شدند نتایج آزمایشات نشان داد که پروبیوتیک *باسیلوس کواگولانس* سبب کاهش معنی‌دار اثر بیماری شد و بهبود علایم حرکتی در تست اپومورفین را به همراه داشت. براساس نتایج این مطالعه پروبیوتیک‌ها باعث جلوگیری از ایجاد پارکینسون در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی می‌شوند.

کلمات کلیدی: پارکینسون، پروبیوتیک، باسیلوس کواگولانس، ٦-هیدروکسی دوپامین، موش صحرایی.

مقدمه

بیماری پارکینسون از گروه بیماری‌های تحلیل برنده دستگاه خارج هرمی است که سلول‌های جسم سیاه واقع در مغز میانی به تدریج از بین می‌رود و دوپامین که توسط آنها ساخته می‌شود کاهش می‌یابد (۱).

از دست رفتن پیشرونده نورون‌های دوپامینرژیک در عقده‌های قاعده‌ای مهمترین یافته پاتولوژیکی در مغز بیماران مبتلا به بیماری پارکینسون است. نابود شدن این نورون‌ها منجر به کاهش نوروترانسمیتر دوپامین در این ناحیه می‌شود (۲). در خصوص مرگ سلول‌های دوپامنیرژیک بخش متراکم جسم سیاه فرضیات متعددی از قبیل نقص کمپلکس I میتوکندریایی مربوط به زنجیره انتقال الکترون، تجمع آهن، اختلال عملکرد سیتوکروم کبدی P450 و افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد مطرح است (۲).

این بیماری به وسیله علائم حرکتی چهارگانه اکنیزی، برادی کینزی ریجیدیتی و کاهش رفلکس‌های وضعیتی و لرزش در حالت استراحت مشخص می شود. اختلال در هوشیاری و حافظه و توانایی ادراک و

تصور و اختلال رفتاری و کاهش عملکرد ویژو – اسپیشال در بیماری پارکینسون وجود دارد (۳).

مکانیسم‌های پاتوژنیک بیماری به طور کامل شناخته نشده است اما به خوبی مشخص شده که استرس اکسیداتیو یکی از عواملی است که نقش مهمی در پاتوژنز پارکینسون ایفا می‌کند (٤). استرس اکسیداتیو عامل اصلی تحلیل در تعدادی از بیماری‌های تحلیل برنده عصبی مانند آلزایمر، MS و پارکینسون می‌باشد (۵).

استرس اکسیداتیو زمانی در یک سیستم سلولی اتفاق می‌افتد که میزان تشکیل رادیکال‌های آزاد در آن فراتر از توان آنتی اکسیدانی آن باشد. استرس اکسیداتیو سبب القای آسیب اکسیداتیو در سلول‌های مغزی می-شود. سلول‌های فعال مغزی در ریسک مشخصی از خطر آسیب دیدگی توسط رادیکال‌های آزاد قرار دارند چرا که سلول های مغزی مصرف اکسیژن بالایی دارند و غشاهای نورونی سیستم اعصاب مرکزی غنی از پلیمرهای اسید چرب غیراشباع می باشند که هدف های بالقوه برای پروکسیداسیون لیپیدی می باشند . که این آسیب احتمالاً به دلیل مرگ انتخابی نورون‌ها درنواحی مغزی که مرتبط با یادگیری و حافظه هستند، می باشد (٦).

تزریق ٦-هیدروکسی دوپامین به سیستم اعصاب مرکزی (CNS) نورون‌های دوپامینرژیک را تخریب می‌کند و با افزایش بار اکسیداتیو در مغز حیوانات آزمایشگاهی همراه می‌باشد. بسیاری از پژوهش‌ها نشان داده‌اند که بعضی از ترکیبات غذایی در سلامتی مغز افراد موثرند و مطالعات فراوانی این را در طی سال‌های گذشته اثبات کرده اند. صدها گونه باکتریایی در دستگاه گوارش انسان زیست دارند که می‌توانند بر فیزیولوژی و سلامت موجود موثر باشند. تحقیقات کنونی نشان می‌دهد که این باکتری‌ها حتی می‌توانند بر روی مغز نیز تاثیر 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 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 (۷).

مواد و روش‌ها

حیوانات: حیوانات مورد استفاده دراین تحقیق موشهای صحرایی نر از نژاد ویستار (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) بودند که در هنگام جراحی در محدوده وزنی۱۸۰- ۲۰۰گرم قرار داشتند. هر سه روز یک بار قفس آنها عوض شد. لازم به ذکر است که پس از انتقال حیوانات به حیوانخانه، برای آن که استرس و ترس ناشی از جابه جایی حیوانات از بین برود و به مکان جدید سازش پیدا کنند به مدت ۲ هفته به آنها فرصت میدهیم تا با شرایط آزمایشگاه خودشان را وفق دهند در این مدت به وزن مورد نظر یعنی ۲۲۰-۲۵۰ گرم رسیدند. حیوانات هر روز از غذای تهیه شده از شرکت خوراک دام پارس، کرج تغذیه میکردند و اب در دسترس انها اب لوله کشی شهری بود. در بررسی حاضر فقط از موش‌هایی استفاده شد که قبل از جراحی هیچ گونه رفتارچرخشی بارز تعداد خالص چرخش کم تر از ۳۰ دور در یکساعت به دنبال تزریق داخل صفاقی هیدروکلراید آپومورفین۰/۵ ملی‌گرم بر کیلوگرم نشان نمی دادند. هر یک از حیوانات هندل شده تا در حین آزمایش استرس ناشی از گرفتن و کار با آن ها وجود نداشته باشد. تمام آزمایش‌ها در طول روز انجام شده است و هر حیوان فقط یکبار در تمامی آزمایش ها، مورد استفاده قرار گرفته است.

گاواژ و خوردن شیر و پروبیوتیک: در تحقیق حاضر از پروبیوتیک باسیلوس کواگولانس با کد T4_10793 تولید شرکت تک ژن استفاده شد.رت ها با پروبیوتیک باسیلوس کواگولانس به مدت یک ماه گاواژ شدند. یعنی هر روز برای هر رت به مقدار ۱میلی گرم مخلوط شیر و پروبیوتیک درون سرنگ گاواژ کشیده میشد وبا سرسرنگ گاواژ از طریق دهان رت به داخل مری و سپس معده برده میشد ومخلوط پروبیوتیک و شیر به داخل معده رت انتقال داده میشد. با این روش اطمینان جهت خورانده شدن مقدار لازم پروبیوتیک و شیر حاصل میشد.

داروها: همه داروهای مصرفی در سالین حل شدند و بعد از حل شدن، دور از نور و در ظرف‌های مخصوص، درون فریزر دمای حدود ۲۰- نگهداری می‌شدند. بالاترین و غلیظترین دوز به عنوان دوز مادر تهیه و دوزهای رقیقتر از آن ساخته شدند. داروهای ٦- هیدروکس دوپامین و آپومورفین ساخت شرکت sigma آمریکایی می‌باشند. در تحقیق حاضر از پروبیوتیک باسیلوس کواگولانس با کد T4_10793 تولید شرکت تک ژن استفاده شد.

جراحی استرئوتاکسیک: موش‌های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلراید (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (شرکت ALFASAN) به علاوه زایلزین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (شرکت ALFASAN) بیهوش شدند. برای جلوگیری از سفتی عضلات در هنگام بیهوشی زایلزین با کتامین به ترتیب با نسبت ۲به۸ قبل از تزریق مخلوط شدند .لازم به ذکر است که موشها در زمان تزریق در هوشیاری کامل بوده و بهتر است به منظور اثرگذاری بهتر دارو، از داروی هم دمای محیط استفاده شود. تمامی حیوانات (به جز ۱۰ موش رت نر در گروه شاهد) در تمامی گروه ها تحت جراحی استرئوتاکسی قرار گرفته و سم ٦ هیدروکسی دوپامین را با غلظت ٤ µg / µL به صورت حل شده در سالین حاوی صدم درصد اسید اسکوربیک(به عنوان فعال کننده)دریافت نمودند .هر موش ۱۰ میکرولیتر از محلول حاوی سم را دریافت نمود. پس از بیهوشی کامل موهای روی جمجمه برداشته شده و حیوان را در دستگاه استرئوتاکس قرار دادیم ، به این صورت که میله های گوشی در فرورفتگی مجرای گوش خارجی و دندان های پیشین در سوراخ میله دندانی جاسازی شد. میله دندانی درمقیاس ۳و ۲- ونیز ۳ و ٤+ میلی متر نسبت به صفر افقی (TB) تنظیم شد تا مطابق اطلس پاکسینوس و واتسون جمجمه حیوان درون دستگاه کاملا افقی باشد. در پوست سر از ناحیه بین دو چشم تا انتهای استخوان پس سری یک برش طولی به اندازه ۱سانتیمتر ایجاد شده وپوست سر را توسط گیره هایی به طرفین کشیدیم. آنگاه محل شکاف را بوسیله الکل ضد عفونی کرده و ماهیچه ها و بافت های پیوندی زیرین را برداشته و سطح استخوان جمجمه را با سواپ آغشته به H2O رقیق شده کاملا تمیز کردیم تا درزهای استخوان های جمجمه و نقطه برگما مشخص شود. برگما محل تلاقی درز تاجی و درز سهمی است. درز تاجی محل اتصال استخوان های پیشانی و آهیانه و درز سهمی است سهمی شکاف بین استخوان‌های آهیانه است. سپس به کمک اطلس پاکسینوس و واتسون

سم در ۱ نقطه در جسم سیاه سمت راست بر اساس مختصات زیر تزریق گردید: AP: -5.3، L: 1.7، V: 7.2

AP: قدامی خلفی براساس فاصله از برگما، L: میانی جانبی بر اساس فاصله از خط وسط، DV: پشتی شکمی بر اساس فاصله از سطح جمجمه. سپس سطح جمجمه با مته سوراخ گردیده و بعد کانال را که با سر سرنگ ۲۷ گیج درست کرده بودیم (کانال به طول ۱.۲ cm) به داخل سوراخ مغز بردیم (با اندازه های

مشخص) و سپس از چسب برای ثابت نگه داشتن کانال استفاده کردیم. پس از انجام جراحی به آنها یک هفته فرصت ریکاوری داده شده .

تزریق درون مغزی دارو در ناحیه کانال گذاری شده: به منظور تزریق دارو ابتدا از باز بودن کانال اطمینان حاصل میکنیم .سپس سر سرنگ دندان پزشکی گیج ۲۷ را با طول یک میلی متر بیشتر از کانال گذاشته شده در سر (کانال راهنما) یعنی چیزی حدود ۱۳ میلی متر بریده و به کات دان تیوپ متصل میکنیم و پس از آزمایش آن توسط سالین و عدم گرفتگی از آن استفاده میکنیم. باید دقت شود که طول کانال تزریق به میزانی نباشد که سبب آسیب به بافت مغز شود با استفاده از سرنگ همیلتون 1 میکرولیتر از دارو (٦ هیدروکسی دوپامین) را به آرامی و در طول مدت زمان۱۰ دقیقه به قسمت کانال گذاشته شده مغز تزریق مینمائیم.

آزمون‌های رفتاری: دراین تحقیق شدت بیماری پارکینسون توسط آزمون رفتاری متداول به نام چرخش القاء شده با آپومرفین مورد سنجش و ارزیابی قرار گرفت.

آزمون چرخشی القا شده توسط تزریق آپومورفین: بطور خلاصه چنانچه تزریق سم٦-هیدروکسی دوپامین سبب تخریب گسترده نورونی در دسته ی میانی مغز قدامی گردد، ۲ تا ٤ هفته پس از جراحی، موش‌ها درقبال تزریق اپومرفین (اگونیست گیرنده‌های دوپامینرژیک) چرخش‌های پی درپی به سمت مقابل محل تزریق نشان می‌دهند. تعداد این چرخش‌ها در واحد زمان معیاری از شدت تخریب نورونی در دسته ی میانی مغزقدامی و تاثیر مداخله می‌باشد. برای اجرای این آزمون موش‌ها ابتدا در داخل یک استوانه پلکسی گلاس شفاف با ابعاد ۲۸ سانتی‌متر قطر و ۳۸ سانتی‌متر ارتفاع قرار داده می‌شدند و به آنها ۵ دقیقه جهت سازش با محیط زمان داده شد. سپس آپومرفین هیدروکلراید (1.5mg/kg, i.p) به موش‌ها تزریق می‌شد و ۱دقیقه پس از آن تعداد چرخش‌ها به طرف محل تزریق سم(عدد منفی) و یا خلاف آن(عدد مثبت) به مدت ۱ ساعت در فواصل ۱۰ دقیقه ای ثبت می‌گردید. در پایان تعداد چرخش خالص موش‌ها به یک طرف با جمع جبری اعداد به دست آمده محاسبه می‌شد. در همه آزمایش‌های توضیح داده شده میزانچرخش بر خلاف جهت محل جراحی به عنوان ملاک پارکینسونی شدن در نظر گرفته شده، نمره هر گروه به صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد(Mean ± S.E.M)ثبت می‌گردید. به منظور تعیین وجود اختلاف معنادار بین گروه‌ها آزمایش، از روش تحلیل واریانس (ANOVA) یکطرفه و آزمون توکی و همچنین Indipendent T-Testاستفاده گردید.اختلاف در سطح$P<0.05$ به عنوان تفاوت معنا دار در نظر گرفته شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزارSPSS و رسم نمودارها از نرم افزارExcel استفاده شد. نتایج آزمون یادگیری یعنی اطلاعات بدست آمده که شامل زمان‌های ثبت شده در میزان چرخش در واحد زمان، ثبت گردید.

آزمایش اول: اثرات تزریق ٦-هیدروکسی دوپامین جهت القا پارکینسون. در این پژوهش اثر تزریق ٦-هیدروکسی دوپامین برای القا پارکینسون مورد آزمایش قرار گرفت. گروه کنترل جراحی نشده و هیچ تزریقی را دریافت نکردند. گروه تزریق آسیب دیده در درون ماده سیاه از ٦-هیدروکسی دوپامین را دریافت کردند (جدول ۱) و سه هفته پس از تزریق از هر دو گروه تست چرخش آپومورفین گرفته شد.

آزمایش دوم: اثر پروبیوتیک باسیلوس گواگولانس بر میزان چرخش در استوانه آزمایش با القا آپومورفین. در این آزمایش از چهار گروه حیوان استفاده شد. گروه اول به مدت یک ماه سالین دریافت کردند و سپس طی جراحی استرئوتاکسی قرار گرفتند و ٦-هیدروکسی دوپامین دریافت کردند. پس از

۳هفته ریکاوری رت ها مورد ازمایش رفتاری قرار گرفتند و ۱۰دقیقه قبل از آزمایش تزریق زیر جلدی آپومورفین جهت القا چرخش را داشتند. گروه دوم به مدت یک ماه ۱ میلی‌گرم شیر کم چرب را هر روز به صورت گاواژ دریافت کردند و سپس طی جراحی استرئوتاکسی قرار گرفتند و ٦-هیدروکسی دوپامین دریافت کردند.پس از ۳هفته ریکاوری رت‌ها مورد ازمایش رفتاری قرار گرفتند. این گروه تزریق زیر جلدی اپومورفین (۱ گرم بر کیلوگرم) را ۱۰ دقیقه قبل از آزمون دریافت کردند. گروه سوم به مدت یک ماه ۱ میلی گرم باکتری مخلوط باشیر را هر روز به صورت گاواژ دریافت کردند و سپس طی جراحی استرئوتاکسی قرار گرفتند و ٦-هیدروکسی دوپامین دریافت کردند.پس از ۳ هفته ریکاوری رت‌ها مورد آزمایش رفتاری قرار گرفتند، این گروه تزریق زیر جلدی آپومورفین را۱۰ دقیقه قبل از آزمون دریافت کردند. گروه چهارم به مدت یک ماه هر روز سالین دریافت کردند، این گروه تزریق زیر جلدی آپومورفین را ۱۰دقیقه قبل از آزمون دریافت کردند. این گروه مورد جراحی استرئوتاکسی قرار نگرفتند و ٦هیدروکسی دوپامین هم دریافت نکردند.

جدول ۱- گروه‌بندی مربوط به آزمایش اول

گروه‌های آزمایشی	تیمار
کنترل	سالم وچیزی دریافت نکرده
آسیب دیده	٦-هیدروکسی دوپامین

جدول ۲- گروهبندی مربوط به آزمایش دوم

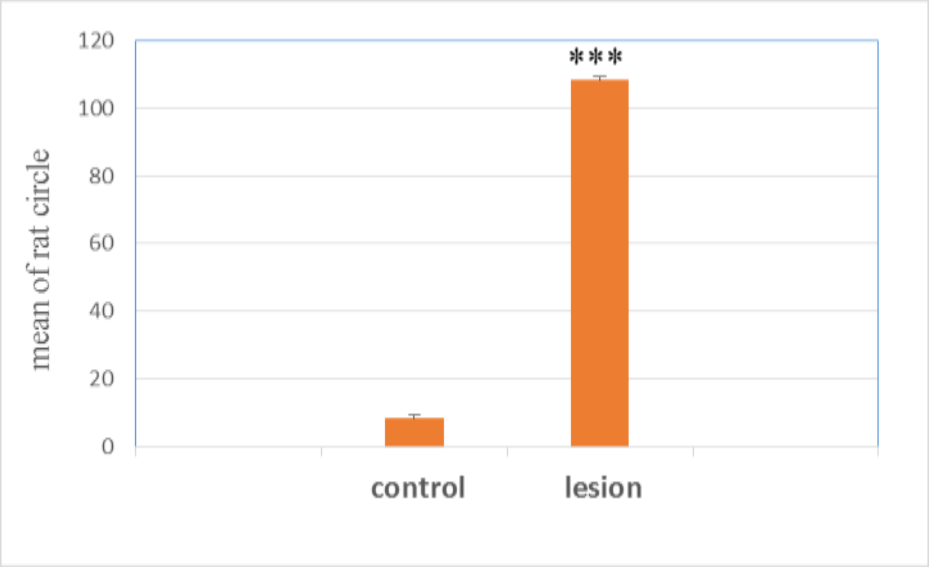
گروه‌های آزمایشی	تزریق درون مغزی پس ازگاواژ	گاواژ
گروه اول	6-OHDA(1mg/kg)	Saline
گروه دوم	6-OHDA(1mg/kg)	milk
گروه سوم	6-OHDA(1mg/kg)	Probiotic+milk
گروه چهارم	Saline	saline

نتایج

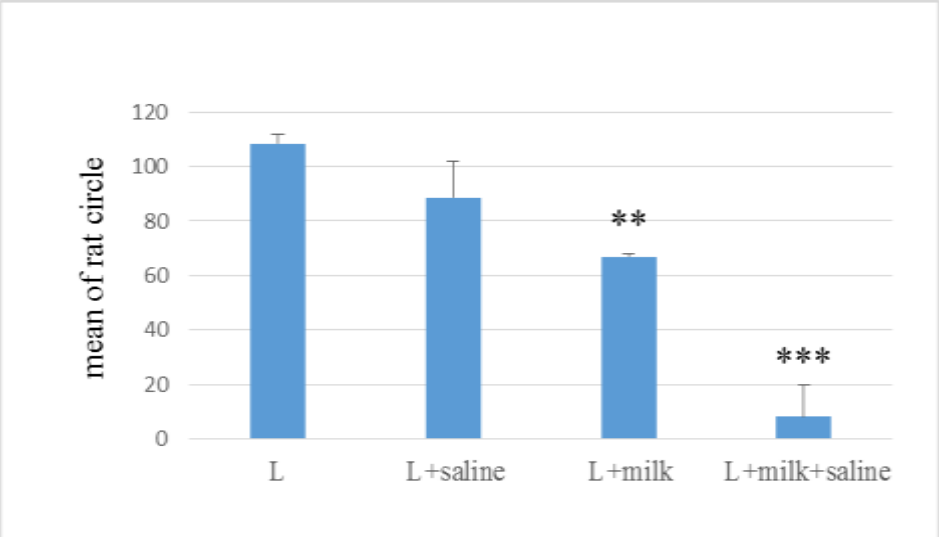
نتایج حاصل از تست چرخش ناشی از آپومورفین این دو گروه نشان می‌دهد که سه هفته بعد از ایجاد آسیب بین گروه ضایعه دیده نسبت به گروه سالم در میانگین تعداد چرخش‌ها اختلاف معنی داری وجود دارد ($p < ۰/۰۰۱$). در واقع بر اساس نتایج به دست آمده گروه آسیب دیده بعد از تزریق داخل صفاقی آپومورفین، رفتار چرخشی اندکی از خود نشان دادند. هر ستون نمایانگر میانگین ± خطای استاندارد مربوط به ۸ موش در هر گروه است. (نمودار ۱). اثر تزریق٦-هیدروکسی دوپامین جهت القا پارکینسون در نمودار ۱ ارائه شده است. آزمون آماری تحلیل واریانس نشان داد که تزریق ٦- هیدروکسی دوپامین منجر به القا پارکینسون در سه هفته پس از تزریق می-شود ($p < ۰/۰۰۱$).

نتایج نشان می‌دهد که گروه دریافت کننده باکتری + شیر (گروه سوم) در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین و شیر به تنهایی کاهش معنی داری را در میزان چرخش نشان میدهد. همچنین گروه دریافت کننده

شیر (گروه دوم) در مقایسه با گروه دریافت کننده سالین به تنهایی (گروه اول) و گروه دریافت کننده سالین همراه با تزریق ٦هیدروکسی دوپامین (گروه چهارم) کاهش معنی‌داری را میزان چرخش نشان می-دهد. این یعنی ارتباط معنی داری بین سطح پروبیوتیک باسیلوس کواگولانس و بیماری پارکینسون وجود دارد. (جدول ۲). نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که دریافت پروبیوتیک در طی ۳۰ روز با p < ۰/۰۰۱ کاهش معنی‌داری را در تعداد چرخش‌ها در مقایسه با گروه اول نشان می‌دهد و دریافت شیر در طی ۳۰ روز با p< ۰/۰۱ کاهش معنی‌داری را در تعداد چرخش‌ها در مقایسه با گروه اول نشان می‌دهد. (نمودار ۲)



نمودار ۱ – آثار تزریق ٦–هیدروکسی دوپامین بر القا پارکینسون در موشهای بزرگ آزمایشگاهی. داده ها به صورت میانه ± چارک نشان داده شده است. ***p < ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سالم می باشد .



نمودار ۲– مقایسه میزان چرخشها بین گروه آسیب دیده و گروه دریافت کننده سالین و همچنین مقایسه میزان چرخشها بین گروه آسیب دیده و گروه دریافت کننده شیر و همچنین مقایسه میزان چرخشها بین گروه آسیب دیده و گروه دریافت کننده پروبیوتیک . داده ها به صورت میانه ± چارک نشان داده شده است. ***p < ۰/۰۰۱ و **p < ۰/۰۱ در مقایسه با گروه سالم می باشد. در

این نمودار L نشان دهنده ی کلمه ی lesin است. L + salin نشان دهنده ی گروهی است که تخریب در انها صورت گرفته و با سالین گاواژ شدند. L + milk نشان دهنده ی گروهی است که تخریب در انها صورت گرفته و با شیر گاواژ شدند. L + probiotic + نشان‌دهنده‌ی گروهی است که تخریب در آنها صورت گرفته و از مخلوط شیر و پرو بیوتیک گاواژ شدند.

بحث

بیمای پارکینسون یک اختلال عصبی پیش رونده است که نورون های دوپامینی در مغز میانی و پروجکت های پوتامن و استریاتوم مغزی و قشر مغز را در درگیر می سازد.در این بیماری اختلال در هوشیاری، حافظه، توانایی ادراک و کاهش عملکرد بینایی-فضایی وجود دارد و توانایی عملکردی وحرکتی افرادکاهش می‌یابد (۸).

روش‌های مختلفی برای ایجاد مدل پارکینسونی وجود دارد که از این روش‌ها می‌توان به روش ایجاد مدل ازطریق سموم و مدل‌های ژنتیکی اشاره کرد. ایجاد مدل از طریق سموم قدیمی‌ترین روش برای ایجاد مدل پارکینسونی می باشد که باعث تغییرات پاتولوژیکی و رفتاری در جوندگان و پریمات ها می شود. استفاده از سموم می تواند سیستمیک یا موضعی باشد که به نوع ماده توکسیک و گونه بستگی دارد (۱). مدل پایه تزریق نوروتوکسین برای ایجاد مدل پارکینسونی تزریق موضعی ٦ - هیدروکسی دوپامین می باشد که اولین مدل حیوانی پارکینسونی از این طریق به وجود آمده است. جهت انجام این مطالعه نیز از تزریق ٦ - هیدروکسی دوپامین برای ایجاد مدل پارکینسونی در رت ها استفاده شد. ٦-هیدروکسی دوپامین آنالوگ دوپامین هیدروکسیله می باشد که میل ترکیبی زیادی با دوپامین(ناقل توکسین به داخل نورون‌های دوپامینرژیک) دارد (۹). بر اساس مطالعات Elyasi و همکاران ،تزریق یک طرفه ٦ - هیدروکسی دوپامین به بخش متراکم جسم سیاه باعث تخریب کامل نورون های دوپامینرژیک و کاهش شدید دوپامین گردیده و به دنبال آن حرکات مزاحم مانند رفتارهای چرخشی در حیوانات مدل پارکینسونی مشاهده می‌گردد که این علائم نشان دهنده مدل پیشرفته بیماری پارکینسون است که با اختلالات حرکتی همراه می‌باشد (۱۰). مکانیسم اثر بدین گونه است که ابتدا ٦ - هیدروکسی دوپامین نورون‌های کاتکولامینرژیک را مورد هدف قرار داده و ساختاری شبیه به دوپامین ونور اپی نفرین دارد و مانند دوپامین رفتار کرده به طوری که از طریق ناقل-های دوپامینی از غشاء نورون‌ها عبور کرده و سپس با سه مکانیسم تولید ROS، پراکسید هیدروژن و مهار زنجیره تنفسی میتوکندری از طریق مهار کمپلکس‌های I و II در میتوکندری عمل کرده و باعث تخریب نورون‌های دوپامینرژیک می‌گردد (۱۰).

نتایج ما نیز نشان می‌دهد تزریق ٦- هیدروکسی دوپامین منجر به القا پارکینسون در موشهای بزرگ آزمایشگاهی می شود.

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های غیربیماری‌زایی هستند که اگر به تعداد کافی و بصورت زنده مورد استفاده قرار گیرند، از طریق ایجاد تعادل میکروبی در روده، اثرات مفید و سلامتی بخشی بر میزبان خود اعمال می‌نمایند و به همین دلیل جز غذاهای فراسودمند محسوب می‌شوند (۱۱). از جمله خواص مفید پروبیوتیک‌ها، کمک به درمان عدم تحمل لاکتوز، اسهال، آلرژی‌ها، بیماری‌های التهابی روده، سندرم روده تحریک پذیر و زخم معده، تحریک سیستم ایمنی، کاهش کلسترول و خاصیت ضد سرطانی می-باشد (۱۲). تا کنون اثرات مفید بسیاری برای پروبیوتیک‌ها گزارش گردیده است و مقالات مروری

متعددی با جمع بندی این مطالعات بالینی بر فواید پروبیوتیک‌ها صحه گذاشته‌اند (۱۳). مطالعات در سطح سلولی و حیوانی و کارآزمایی‌های بالینی متعدد نشان داده‌اند که پروبیوتیک‌ها می‌توانند نقشی مؤثر در بهبود اجزاء سندرم متابولیک ایفا کنند (۱۰). با توجه به فعالیت‌های درمانی پروبیوتیک‌ها، این مطالعه به منظور بررسی مصرف خوراکی پروبیوتیک Bacillus coagulance بر موش‌های صحرایی نر پارکینسونی شده انجام گرفته است.

یکی از دلایل ایجاد پارکینسون استرس اکسیداتیوه و خاصیت آنتی اکسیدانی پروبیوتیکها هم بنا به گزارشات

Balakrishnan و همکارانش و توسط Dhanalakshmi و همکاران در سال ۲۰۱۶ طی مطالعات خود اظهار داشتند ثابت شده است (۱۴, ۱۵). از جمله خواص پروبیوتیک‌ها خاصیت آنتی اکسیدانی آن ها می باشد. پروبیوتیک ها با توانایی تولید و افزایش سطح متابولیت های آنتی اکسیدانی،تنظیم فعالیت آنتی اکسیدان ها، افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی با تنظیم برخی مسیرهای سیگنالینگ و کاهش تولید ROS از طریق کاهش فعالیت آنزیم های تولید کننده رادیکال آزاد موجب تنظیم سطح آنتی اکسیدان ها می شوند (۱۶).

نتایج چندین مطالعه نشان داده است که مصرف پروبیوتیک ها می توانند استرس اکسیداتیو را کاهش دهند. در واقع مشخص شده است که پروبیوتیک ها این عمل را ازطریق تولید اسید بوتریک و هیدروژن که احتمالاً نقش تحریک کننده ای در تولید آنتی اکسیدان ها و تخریب را دیکال های آزاد دارند ، انجام می دهند (۱۷). Chen و همکاران در طی مطالعات خود این گونه بیان کرند که پروبیوتیک ها به طور معنی داری پراکسیداسیون لیپیدی و تشکیل نیتریک اکساید را مهار کرده و از این طریق آسیب اکسیداتیو ایجاد شده را کاهش داده و مقادیر آنتی اکسیدان ها از قبیل گلوتاتیون، گلوتاتیون پراکسیداز و فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز را افزایش می دهند. کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از مصرف پروبیوتیک ها به دلیل اثر آن ها برافزایش سطح گلوتاتیون احیا شده و مهار رادیکالهای هیدروکسیل و سوپر اکسید می‌باشد (۱۸). همچنین نتایج مطالعات صورت گرفته در مورد اثر پروبیوتیک‌ها بر استرس اکسیداتیو نشان می دهد که مصرف پروبیوتیک ها در حیوانات مبتلا به پانکراتیت حاد باعث افزایش بیوسنتز گلوتاتیون و کاهش استرس اکسیداتیو می شود (۱۹). این موضوع نشان می دهد که احتمالاً پروبیوتیک ها با افزایش ترشح آنتی اکسیدان منجر به حذف رادیکال های آزاد اضافی تولید شده می گرددو با تنظیم تعادل رادیکال های آزاد ، بافت و اندام آسیب دیده بدن را ترمیم می کنند و از این طریق حفاظتی خود را بر بافت های عصبی اعمال کرده اند. از این رو رت هایی که تحت رژیم پروبیوتیک بوده اند به بیماری پارکینسون مبتلا نشده اند.

التهاب عصبی مزمن با پاتوفیزیولوژی بیماری پارکینسون مرتبط است. افزایش سطح میانجی های پیش برنده التهابی از قبیل TNF-α و IL-6 در آنالیز هسته ای بیماران پارکینسونی بعد ازمرگ گزارش شده است (۲۰). TNF-α عضوی از لیگاند های گروه TNF است که بسیاری از آن ها در ایجاد سیگنال های التهابی نقش دارند. TNF-α یک میانجی سیستم ایمنی است که به طور طبیعی در تنظیم توان حیاتی سلول ها، بیان ژن، یکپارچگی سیناپسی و هومئوستاز یونی نقش داشته و یک میانجی کلیدی مرگ سلولی در التهاب سیستم اعصاب مرکزی است. از آنجایی که نورون های دوپامینرژیک هسته ی سیاه به عوامل پیش برنده ی التهابی حساسیت بیشتری نشان می دهد، افزایش این سایتوکین و فاکتور التهابی در بسیاری از

بیماری های نورودژنراتیو همچون پارکینسون دیده شده و موجب افزایش آسیب و مرگ نورون ها شده است (۲۱).

پروبیوتیک ها در سطوح متعددی بر روی سیستم ایمنی تاثیر می گذارند . بدین صورت که تکثیر سلول های ایمنی را افزایش می دهند و تولید سایتوکین های التهابی TNF-α و IL-6 را القا می کنند (۲۲). طی مطالعاتی که در سال توسط و همکارانش صورت پذیرفت، پروبیوتیک ها از طریق بهبود ترکیب میکرو فلور روده، کاهش نفوذ پذیری سد موکوسی روده نسبت به لیپوساکاریدها و جلوگیری از ورود اندوتوکسین های حاصل از باکتری ها به گردش خون می توانند در کاهش التهاب موثر باشند. لیپوپلی-ساکاریدها از طریق اتصال به کمپلکس موجود بر سطح سلول‌های ایمنی، ترشح سایتوکاین‌های پیش التهابی را تحریک می‌کنند. به علاوه، پروبیوتیک‌ها با افزایش تعداد سلول‌های T کشنده طبیعی NKT (Natural Killer T cell) می‌توانند در کنترل التهاب سیستمیک مفید باشند. سلول‌های NKT، تولید سایتوکین‌ها پیش التهابی مانند TNF-α را کاهش می دهند و پیام رسانی التهاب را تضعیف می‌کنند (۲۳). بنابراین احتمالاً در مطالعه حاضر نیز، در گروه دریافت کننده پروبیوتیک، پروبیوتیک ها با کاهش ترشح سایتوکاین‌های پیش التهابی از آسیب و مرگ نورون‌ها جلوگیری کرده و بدین ترتیب مانع مبتلا شدن رت‌ها به بیماری پارکینسون شده است. یکی از دیگر از شایع تری اختلالات عملکرد شناختی در بیماران پارکینسونی، اختلال حافظه می باشد که در ٤٠ تا ٦٠ درصد این بیماران دیده می شود (٢٤). همان گونه که ذکر شد، دژنراسیون نورون های دوپامینرژیک در هسته جسم سیاه و به دنبال آن نقص در آزاد سازی دوپامین در ناحیه استریاتوم مغز به عنوان عامل اصلی در ایجاد بیماری پارکینسون مطرح می‌باشد (۲۵).

دوپامین به عنوان یک سوبسترای بالقوه در شکل پذیری سیناپسی و مکانیسم های حافظه معرفی شده است. در مورد نقش دوپامین در حافظه و یادگیری شواهد فارماکولوژیکی وجود دارد. هر دو گیرنده های دوپامینی(D_1 و D_2) در فرآیندهای مختلف حافظه و یادگیری نقش دارند. مطالعات نشان داده اند که گیرنده های دوپامینی موجب افزایش شناخت غیر فعال و بهبود کارآیی شناختی در موش می شوند (٢٦). در این زمینه Heron و همکاران در طی تحقیقات خود نشان داه اند که با تخریب نورون های دوپامینرژیک بخش متراکم جسم سیاه ، از طریق دو مکانیسم کمپلکس I میتوکندری و ایجاد استرس اکسیداتیو، می توان ورودی های دوپامینی هیپوکمپ را حذف و حیوان مدل پارکینسونی با اختلال حافظه را به وجود آورد (۲۱). بنابراین آزاد کردن دوپامین در این منطقه نقش مهمی را در افزایش سیناپس های بین نورونی و تقویت حافظه ایفاء می‌کند. اهمیت این مساله به حدی است که از آن به عنوان سیستم های حافظه استریاتال و هیپوکمپال نام برده شده و تعداد زیادی از گیرنده های دوپامینی در این مناطق شناسایی شده اند و حتی با تزریق آگونیست و آنتاگونیست های دوپامینی در این مناطق تقویت و یا اختلال حافظه را ایجاد کرده اند(۲۷).

از آنجایی که طی مطالعات Tillmann ، نشان داده شده است که پروبیوتیک ها در تولید نوروترانسمیترها از جمله سروتونین و دوپامین نقش عمده ای دارند (۲۸)، احتمالاً در مطالعه حاضر نیز ، پروبیوتیک با افزایش دوپامین باعث بهبود حافظه فضایی شده و به دنبال آن بهبود بیماری پارکینسون شده و و بدین ترتیب اثر پیشگیرانه ای در ابتلاء شدن رت ها ی تحت درمان با پروبیوتیک به بیماری پارکینسون داشته اند.

در سیستم مرکزی اعصاب پستانداران ، مرگ برنامه ریزی شده ی سلولی یا آپوپتوز وجود دارد. این مرگ برنامه ریزی شده ی سلولی اغلب در نواحی که در آن نوروژنز مانند شکنج دندانه دار و تشکیلات هیپوکامپ که نقش موثری در یادگیری و حافظه دارد، مشاهده می گردد (۲۹). از آن جایی که طی فرآیند نوروژنز تعداد بسیار زیادی از نورون های جدید ساخته می شوند و تنها برخی از آن ها زنده می مانده و بقیه دچار آپوپتوز می شوند، لذا آپوپتوز در این ناحیه وابسته به نوروژنز است. بنابراین با توجه به این که آپوپتوز یک فرآیند پیچیده است که می تواند توسط عوامل یا شرایط بسیار زیادی القا و تنظیم گردد، عواملی که بتوانند در این ناحیه منجر به القای نوروژنز شوند و یا از مرگ سلول های تازه متولد شده جلوگیری نمایند ، می توانند بر عملکرد شناختی یادگیری و حافظه تاثیر بگذارند (۲۵). در این خصوص مطالعات Llewellyn این گونه بیان می‌کنند که پروبیوتیک‌ها می‌توانند باعث القای نوروژنز در هیپوکامپ شده و از این طریق حافظه فضایی را بهبود بخشیده و در درمان بیماری پارکینسون نقش دارد (۳۰).

Corpuz و همکاران به تغییراتی در نوروپپتید ها و میانجی‌های عصبی مغز بر اثر استفاده از پروبیوتیک حاصل می شود که از آن جمله می توان به افزایش اپی نفرین و سروتونین در قشر مغز و هیپوکامپ موش سوری اشاره کردند (۳۱). سروتونین یک نوروترنسمیتر با ساختار اسید آمینه ای است که نقش بسیار مهمی در پدیده های فیزیولوژیک از جمله حافظه دارد (۳۲). نقش سروتونین به واسطه عملکرد انواع مختلف گیرنده های آن صورت می گیرد. مطالعات نوروشیمیایی مشخص کرده اند که کاهش سروتونین در بیماری های مرتبط با اختلال حافظه مشاهده می شود (۳۳). لذا می توان این گونه نتیجه گیری کرد که احتمالاً پروبیوتیک ها با تحریک سیستم سروتونرژیکی منجر به القاء حافظه و به دنبال آن بهبود بیماری پارکینسون شده و در مبتلا نشدن رت های گروه دریافت کننده پروبیوتیک به بیماری پارکینسون موثر واقع شده باشند.

آنزیم مبدل آنژیوتایسین یا ACE ، آنزیم اصلی در سیستم رنین – آنژیوتایسین محسوب می شود و اگزو پپتیدازی است که باعث تبدیل آنژیوتایسین I به II می شود. آنژیوتایسین II باعث فعال شدن اکسیدازهای وابسته به NADPH می شوند که سوپراکسایدها را تولید می کنند که این سوپراکسیدازها در بروز بیماری های مختلف نقش دارند. بنابراین آنژیوتایسین II می تواند با تولید ROS ز طریق گیرنده های AT1 باعث تخریب اعصاب دوپامینی شود و دستکاری اجزاء سیستم تخریب رنین آنژیوتایسین(RAS) جهت درمان بیماری پارکینسون قابل توجه است(۳٤). در طی مطالعات انجام شده توسط Laudisio ، اثرات داروهای مهار کننده آنزیم مبدل آنژیوتایسین I به آنژیوتایسین II ، در درمان بیماران پارکینسونی مورد توجه قرار گرفته است. همچنین اثرات حفاظت نورونی مهارگرهای ACE در برابر نوروتوکسین های MPTP و ٦- هیدروکسی دوپامین در جوندگان نیز اثبات شده است (۳۵).

ازجمله اثرات مهم پروبیوتیک ها مهار فعالیت ACE به واسطه‌ی پپتیدهای مهاریACE می باشد. این عمل از عملکرد پروتئولیزی پروبیوتیک‌ها از پروتئین‌های اصلی و غیر فعال مشتق می شوند (۳٦). علاوه بر این در مطالعات Wulandani ، مشخص شده است که طی تخمیر شیر توسط باکتری های پروبیوتیک مختلف ، پپتیدهای ممانعت کننده از فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتایسین توسط آنزیم های پروتئیناز پروبیوتیک ها از پروتئین های شیر آزاد می شوند. این پپتیدها با جلوگیری از فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتایسین از طریق

کاهش آنژیوتایسین II ، در کنترل بیماری پارکینسون موثر هستند(۳۷). بنابراین احتمالاً در مطالعه حاضر نیز پروبیوتیک ها با ممانعت از فعالیت آنزیم مدل آنژیوتایسین ، در مصون ماندن علائم بیماری پارکینسون در رت های دریافت کننده پروبیوتیک Bacillus coagulance، موثر بوده است.

گیرنده ی استیل کولین ، پروتئین های غشایی منتقل کننده ی پیام های های عصبی غالب سیستم عصبی مرکزی و محیطی می باشند. در سیستم عصبی مرکزی ، استیل کولین در عملکردهایی همچون توجه، آموزش، حافظه، هوشیاری، خواب و کنترل حرکات اختیاری نقش دارد. تغییر ساختار سیستم استیل کولین در اختلال های شناختی عصبی اصلی مثل پارکینسون نیز حضور دارد (۳۸). استیل کولین در پایانه های اعصاب به وسیله آنزیم استیل کولین ترانسفراز ساخته شده و در ویزیکول های سیناپسی ذخیره می شود. هنگامی که پتانسیل عمل به انتهای آکسون می رسد ، کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ باز می شوند و به دنبال آن، یون کلسیم وارد پایانه های عصبی می شود.کلسیم وارد شده به وزیکول های حاوی استیل کولین، متصل شده و موجب اگزوسیتوز استیل کولین به شکاف سیناپسی می شود. بخشی از استیل کولین ، در فضای سیناپسی توسط آنزیم استیل کولین استراز تجزیه می شود (۳۹).

به طور کلی، گیرنده های کولینرژیک دو نوع هستند. گروه اول ، گیرنده های کولینرژیک متابوتروپیک که گیرنده های موسکارینی را در بر میگیرند. این گیرنده ها علاوه بر استیل کولین ، توسط موسکارین نیز تحریک می شوند. گروه دوم گیرنده های کولینرژیک یونوتروپیک هستند که گیرنده های نیکوتینی، به این گروه تعلق دارند . نواحی هیپوکامپ، آمیگدال و قشر مغز از جمله نواحی عملکردی استیل کولین می باشند که مسئول پردازش اختلالات شناختی هستند و از آنجایی که که برای صدمات اکسیداسیون مستعد هستند ، از این رو در بیماری پارکینسون بیشتر آسیب می بینند (۴۰). شواهد زیادی مبنی بر نقص در گیرنده های استیل کولین در بروز علایم پاتولوژیک بیماران پارکینسونی وجود دارد. در این خصوص مطالعات در سال ، نشان داده است که تراکم گیرنده های موسکارینی نوع یک(M1) در بیماران مبتلا به پارکینسون تغییر می کند . بر طبق این پژوهش، میزان پروتئین M1 در قشر جلوی مغز کاهش می یابد که این امر با شدت زوال شناختی در ارتباط بوده و شدت بروز بیماری پارکینسون را افزایش می دهد (۴۱). پروبیوتیک ها در سطح مکانیسم های مولکولی در انتقال سیناپسی نقش ایفا می کنند. مطالعات نشان داده اند که پروبیوتیک ها در تولید نوروترنسمیترها و نورومدولاتورها از جمله استیل کولین نقش موثر داشته (۴۲) و احتمالاً از این طریق توانسته است در کاهش بروز علائم بیماری پارکینسون مفید واقع شود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه که روی۴۸ سر موش رت نر صحرایی صورت گرفت مشخص شد که تجویز پروبیوتیک باسیلوس کواگولانس به صورت خوراکی به عنوان پیش درمان از طریق تحریک بازسازی نورون‌ها آسیب‌دیده و افزایش عملکرد نورون های با قی مانده سبب محافظت از سلول های عصبی می‌شوند. یعنی دیده شد که چرخش‌ها به سمت مقابل ناحیه تخریب شده صورت گرفت که این نتایج تایید کننده اثر حفاظتی و پیشگیرانه ی پروبیوتیک باسیلوس کواگولانس در مقابل سمیت عصبی ناشی از ۶-OHDA دارد و باعث کاهش حرکت بعد از تزریق آپومورفین در موش‌های صحرایی میشود. این درحالی است که به دنبال تزریق 6-OHDA تخریب فوری و کامل نورون های دوپامینرژیکی شروع می‌شود. که

این تخریب باعث کاهش دوپامین در جسم مخطط می شود و این کاهش دوپامینی با اندازه گیری تعداد چرخش های ناشی از تزریق آپومورفین سنجیده می شود.

منابع

1. Lopes FM, da Motta LL, De Bastiani MA, Pfaffenseller B, Aguiar BW, de Souza LF, et al. RA differentiation enhances dopaminergic features, changes redox parameters, and increases dopamine transporter dependency in 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity in SH-SY5Y cells. Neurotoxicity research. 2017;31(4):545-59.

2. Goren B, Kahveci N, Eyigor O, Alkan T, Korfali E, Ozluk K. Effects of intranigral vs intrastriatal fetal mesencephalic neural grafts on motor behavior disorders in a rat Parkinson model. Surgical neurology. 2005;64:S33-S41.

3. Jobst EE, Melnick ME, Byl NN, Dowling GA, Aminoff MJ. Sensory perception in Parkinson disease. Archives of Neurology. 1997;54(4):450-4.

4. Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Goetz CG, Marin C, Kordower JH, Rodriguez M, et al .Missing pieces in the Parkinson's disease puzzle. Nature medicine. 2010;16(6):653.

5. Haddad JJ, Saadé NE, Safieh-Garabedian B. Cytokines and neuro–immune–endocrine interactions: a role for the hypothalamic–pituitary–adrenal revolving axis. Journal of neuroimmunology. 2002;133(1-2):1-19.

6. Abe K, Saito H. Effects of saffron extract and its constituent crocin on learning behaviour and long-term potentiation. Phytotherapy Research. 2000;14(3):149-52.

7. Abhari K, Shekarforoush SS, Hosseinzadeh S, Nazifi S, Sajedianfard J. The effects of prebiotic, probiotic and synbiotic diets containing Bacillus coagulans and inulin on serum lipid profile in the rat. Veterinary Science Development. 2015.

8. Rose L. Healthcare for the Elderly: UC Santa Cruz; 2018.

9. Zanganehnejad Z, Setorki M. Effect of Biarum carduchrum extract on brain tissue thiol level in rat model of 6-hydroxydopamine-induced Parkinson’s disease. Journal of Herbmed Pharmacology. 2018;7(3).

10. Elyasi L, Jahanshahi M, Ghazvini H, Nikmahzar E. The Protective Effects of Citrus aurantium Flower Extract against 6-Hydroxydopamine-Mediated Cell Damage in Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cells. International Journal of Morphology. 2018;36(2).

11. LeBlanc JG, Chain F, Martín R, Bermúdez-Humarán LG, Courau S, Langella P. Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. Microbial cell factories. 2017;16(1):79.

12. Lavekar AS, Raje DV, Manohar T, Lavekar AA. Role of probiotics in the treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Meta-analysis. Euroasian journal of hepato-gastroenterology. 2017;7(2):130.

13. Nurul Adilah Z, Liew W-P-P, Mohd Redzwan S, Amin I. Effect of high protein diet and probiotic lactobacillus casei shirota supplementation in aflatoxin B1-induced rats. BioMed research international. 2018;2018.

14. Balakrishnan R, Tamilselvam K, Sulthana A, Mohankumar T, Manimaran D, Elangovan N. Isolongifolene Attenuates Oxidative Stress and Behavioral Impairment in Rotenone-Induced Rat Model of Parkinson’s Disease. International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases. 2018;8(2):53.

15. Dhanalakshmi C, Janakiraman U, Manivasagam T, Thenmozhi AJ, Essa MM, Kalandar A, et al. Vanillin attenuated behavioural impairments, neurochemical deficts, oxidative stress and apoptosis against rotenone induced rat model of Parkinson's disease. Neurochemical research. 2016;41(8):1899-910.

16. Dallé E, Mabandla MV. Early life stress, depression and Parkinson's disease: a new approach. Molecular brain. 2018;11(1):18.

17. Panda SK, Behera SK, Qaku XW, Sekar S, Ndinteh DT, Nanjundaswamy H, et al. Quality enhancement of prickly pears (Opuntia sp.) juice through probiotic fermentation using Lactobacillus fermentum-ATCC 9338. LWT. 20۹.–۷۵:٤٥۳;۱۷

18. Chen R, Chen W, Chen H, Zhang G, Chen W. Comparative evaluation of the antioxidant capacities, organic acids, and volatiles of papaya juices fermented by Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus plantarum. Journal of Food Quality. 2018۲۰۱۸.;

19. Mahmoudi I, Moussa OB, Hassouna M. Symbiotic, hypocholesterolemic and antioxidant effects of potential probiotic lactobacilli strains isolated from Tunisian camel milk. Advances in Microbiology. 2017;7(04):328.

20. Territo PR, Meyer JA, Peters JS, Riley AA, McCarthy BP, Gao M, et al. Characterization of 11C-GSK1482160 for targeting the P2X7 receptor as a biomarker for neuroinflammation. Journal of Nuclear Medicine. 2017;58(3):458-65.

21. Harms AS, Thome AD, Yan Z, Schonhoff AM, Williams GP, Li X, et al. Peripheral monocyte entry is required for alpha-Synuclein induced inflammation and Neurodegeneration in a model of Parkinson disease. Experimental neurology. 2018;300:179-87.

22. Sichetti M, De Marco S, Pagiotti R, Traina G, Pietrella D. Anti-inflammatory effect of multistrain probiotic formulation (L. rhamnosus, B. lactis, and B. longum). Nutrition. 2018;53:95-102.

23. Vaghef-Mehrabany E, Rad AH, Alipour B, Vaghef-Mehrabany L, Asl MS. Formulation and Design of Probiotic Supplements for Rheumatoid Arthritis Patients. Pharmaceutical Sciences. 2018;24(1):44-51.

24. Giordano N, Iemolo A, Mancini M, Cacace F, De Risi M, Latagliata EC, et al. Motor learning and metaplasticity in striatal neurons: relevance for Parkinson's disease. Brain. 2017;141(2):–۵۰۵

25. Wang X, Wang X, Chen H, Canning SD, Luo X. Cognitive Changes and Promotion in Parkinson's Disease. Parkinson's Disease. 2018;2018.

26. Saikia A, Kakoty NM, Phukan N, Balakrishnan M, Sahai N, Paul S, et al. Combination of EMG Features and Stability Index for Finger Movements Recognition. Procedia computer science. 2018;133:92-8.

27. Bhardwaj R, Deshmukh R. Neurotrophic factors and Parkinson's disease. Clinical Investigation. 2018;8(1):53-62.

28. Tillmann S, Awwad HM, Eskelund AR, Treccani G, Geisel J, Wegener G, et al. Probiotics Affect One-Carbon Metabolites and Catecholamines in a Genetic Rat Model of Depression. Molecular nutrition & food research. 2018;62(7):1701070.

29. Montico B, Nigro A, Casolaro V, Dal Col J. Immunogenic apoptosis as a novel tool for anticancer vaccine development. International journal of molecular sciences. 2018;19(2):594.

30. Llewellyn A, Foey A. Probiotic modulation of innate cell pathogen sensing

and signaling events. Nutrients. 2017;9(10):1156.

31. Corpuz H, Ichikawa S, Arimura M, Mihara T, Kumagai T, Mitani T, et al. Long-Term Diet Supplementation with Lactobacillus paracasei K71 Prevents Age-Related Cognitive Decline in Senescence-Accelerated Mouse Prone 8. Nutrients. 2018;10(6):762.

32. Beliveau V, Ganz M, Feng L, Ozenne B, Højgaard L, Fisher PM, et al. A high-resolution in vivo atlas of the human brain's serotonin system. Journal of Neuroscience. 2017;37(1):120-8.

33. Hagena H, Manahan-Vaughan D. The serotonergic 5-HT4 receptor: A unique modulator of hippocampal synaptic information processing and cognition. Neurobiology of learning and memory. 2017;138:145-53.

34. Messerli FH, Bangalore S, Bavishi C, Rimoldi SF. Angiotensin-converting enzyme inhibitors in hypertension: to use or not to use? Journal of the American College of Cardiology. 2018;71(13):1474-82.

35. Laudisio A, Monaco MRL, Silveri MC, Bentivoglio AR, Vetrano DL, Pisciotta MS, et al. Use of ACE-inhibitors and falls in patients with Parkinson’s disease. Gait & posture. 2017;54:39-44.

36. Georgalaki M, Zoumpopoulou G, Mavrogonatou E, Van Driessche G, Alexandraki V, Anastasiou R, et al. Evaluation of the antihypertensive angiotensin-converting enzyme inhibitory (ACE-I) activity and other probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditional Greek dairy products. International dairy journal. 2017;75:10-21.

37. Wulandani B, Marsono Y, Utami T, Rahayu E. Potency of yogurt as angiotensin converting enzyme inhibitor with addition of Ficus glomerata Roxb fruit extract. International Food Research Journal. 2018;25(3).

38. Jones C. Impact of the Alpha-7 Nicotinic Acetylcholine Receptor on Long-Term Potentiation within the Hippocampus: Implications in Schizophrenia. Psychiatric Annals. 2018;48(7):345-8.

39. Kim YR, Kwon MY, Pak ME, Park SH, Baek JU, Choi BT. Beneficial effects of gagam-palmultang on scopolamine-induced memory deficits in mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2018;2018.

40. Han S-H, Kim S-J, Yun YW, Nam SY, Lee H-J, Lee B-J. Erratum: Protective effects of cultured and fermented ginseng extracts against scopolamine-induced memory loss in a mouse model. Laboratory animal research. 2018;34(3):132.

41. Sanchez M, Darimont C, Panahi S, Drapeau V, Marette A, Taylor V, et al. Effects of a diet-based weight-reducing program with probiotic supplementation on satiety efficiency, eating behaviour traits, and psychosocial behaviours in obese individuals. Nutrients. 2017;9(3):284.

42. Mehta V, Bhatt K, Desai N, Naik M. Probiotics: An Adjuvant therapy for D-Galactose induced Alzheimer's disease. Journal of Medical Research and Innovation. 2017;1(1):30-3.