

بررسی تاثیر لاکتوباسیلوس کازئی سویه TD₂، پروبیوتیک بومی ایران، بر میزان ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک در رت نر نژاد ویستار تحت شرایط استرس بی حرکتی مزمن

سمانه یزدی^۱، پروانه جعفری^۲، ندا اکبری^۲

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات اراک، کارشناسی ارشد گروه علوم پایه، اراک، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک، استادیار گروه علوم پایه، اراک، ایران. P-jafari@iaau.arak.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۳ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: هر نوع استرس چه فیزیکی و چه عصبی موجب افزایش در ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک (ACTH) و افزایش شدید ترشح کورتیزول می شود. پروبیوتیک ها احتمالاً می توانند در کاهش اثرات مخرب استرس موثر باشند. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر لاکتوباسیلوس کازئی سویه TD₂ بر میزان ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک در رت نر نژاد ویستار تحت شرایط استرس بی حرکتی مزمن است.

روش کار: برای انجام این تحقیق ۴۰ رت نر نژاد ویستار با سن و وزن تقریبی یکسان ۱۳۰-۱۱۰ gr انتخاب شد. پس از ۲ هفته دوره سازگاری، رت ها به طور تصادفی در چهار گروه ده تایی شامل ۲ گروه کنترل منفی (به مدت ۲۱ روز با ۱ ml بافر فسفات با pH خنثی)، کنترل مثبت علاوه بر گاوآز روزانه با بافر، هر روز به مدت ۱۵ دقیقه بی حرکتی مزمن)، و ۲ گروه آزمون ۱ (با گاوآز هر روز پروبیوتیک)، آزمون ۲ (علاوه بر پروبیوتیک، استرس نیز دریافت می کرد) تقسیم شدند. پس از طی شدن دوره آزمون، رت ها با اتر بیهوش و سپس خونگیری از قلب آن ها به عمل آمد. میزان هورمون ACTH با استفاده کیت اندازه گیری شد.

یافته ها: نتایج نشان داد که در طی استرس میزان هورمون در گروه کنترل مثبت افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل منفی نشان داد. دریافت پروبیوتیک در آزمون ۲، سبب کاهش معنی دار غلظت هورمون نسبت به گروه کنترل مثبت می گردد. میزان ترشح هورمون استرسی در گروه آزمون ۱ حتی از گروه کنترل منفی که استرسی دریافت نکرده به صورت معنی داری کمتر بود. نتیجه گیری: نتایج نشان می دهد که مصرف پروبیوتیک می تواند اثرات منفی استرس های مزمن و مقدار هورمون ACTH خون را به مقادیر قابل توجهی کم نماید.

واژه های کلیدی: پروبیوتیک، استرس، هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک (ACTH)، لاکتوباسیلوس کازئی.

مقدمه

و اصولاً در طی پاسخ به استرس فعال شده و سبب تغییر بسیاری از عملکردهای فیزیولوژی بدن می شود. از مهم ترین این تغییرات، افزایش فشار خون، افزایش قند خون، گلوکونئوز و سرکوب سیستم ایمنی است که در کوتاه مدت مفید است به طوری که هیچ موجود زنده ای بدون استرس نیست ولی در استرس های طولانی مدت و مزمن می تواند آسیب های جدی ایجاد کند (۷). تحقیقات نشان دهنده تاثیرات منفی استرس بر سیستم ایمنی می باشد به عبارت دیگر استرس سبب کاهش

یکی از مهم ترین مشکلات بشر در دنیای پیشرفته کنونی استرس ایجاد شده از عوامل مختلف و اثرات سوء ناشی از آن می باشد. استرس در واقع واکنش بدن به هر محرکی است که تعادل را بر هم می زند. وقتی تعادل هورمون های مختلف تغییر کند تاثیر این تغییر می تواند توسط سیستم ایمنی دریافت گردد. سیستم عصبی مرکزی (مغز و نخاع) نقش اساسی در مکانیسم های وابسته به استرس در بدن دارند. سیستم عصبی مرکزی در ارتباط نزدیک با سیستم غدد درون ریز (اندوکرین) بوده

غده فوق کلیه: غده فوق کلیه از مهم‌ترین اندام‌های موجود در سیستم اندوکرین بوده که درست بر روی کلیه قرار گرفته و مسئول سنتز هورمون‌های استرس است که در طی پاسخ به استرس به جریان خون آزاد می‌شوند. کورتیزول مهم‌ترین هورمون استرس آزاد شده از این غده است (۱۱). نوروترانسمیتر نوراپی‌نفرین علاوه بر لوکوس کورولئوس (Locus coeruleus) موجود در سیستم عصبی مرکزی، از فوق کلیه نیز آزاد شده و در طی پاسخ استرس وارد جریان خون می‌شود. در این حالت نوراپی‌نفرین همانند یک هورمون در سیستم اندوکرین عمل می‌کند (۴).

واکنش‌های عصبی-شیمیایی استرس

هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین: این هورمون، هورمون عصبی ترشح شده توسط هیپوتالاموس در طی پاسخ استرس است که با اتصال به گیرنده خاص در هیپوفیز قدامی سبب تحریک آن و آزاد شدن هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک می‌شود (۱۰).

هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک: این هورمون توسط غده هیپوفیز قدامی ترشح شده و با ورود به جریان خون سبب تحریک کورتکس غده فوق کلیه شده در نتیجه هورمون کورتیزول از این غده ترشح می‌شود (۱).

کورتیزول یا کورتیکوسترون: کورتیزول یک هورمون استروئیدی است که به گروه استروئیدها با نام گلوکوکورتیکوئید تعلق دارد. این هورمون از غده فوق کلیه در طی استرس آزاد می‌شود. عمل آن پراکنش مجدد انرژی (گلوکز) در مناطق مورد نیاز از بدن همانند مغز و ماهیچه است که در طی موقعیت جنگ-گریز فراهم می‌آورد. به عنوان بخشی از پاسخ جنگ-گریز، کورتیزول هم‌چنین سبب سرکوب سیستم ایمنی بدن می‌شود. این امر در بازه‌های زمانی کوتاه مدت خطرناک نیست ولی در استرس‌های مزمن، بدن در برابر حملات به سیستم ایمنی آسیب‌پذیر می‌گردد. این امر از نتایج

فعالیت سیستم ایمنی و تضعیف آن می‌گردد. در نتیجه استرس احتمال ابتلا به انواع بیماری‌ها افزایش می‌یابد (۱۵، ۵). از مهم‌ترین بخش‌های دخیل در واکنش‌های استرسی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد (۱۶، ۱۵):

مغز: مغز نقش اساسی در درک و پاسخ بدن به استرس دارد. البته اشاره به جایگاه ویژه‌ای از مغز که مسئول پاسخ به جنبه‌های ویژه استرس است، به راحتی امکان پذیر نمی‌باشد. مغز به صورت یک شبکه موقعیت‌های استرس‌زا را جمع‌آوری و تفسیر می‌نماید. ساختارهای مهمی از مغز نقش کلیدی در مسیرهای پاسخ استرس دارند که در زیر شرح داده می‌شود (۱۲).

هیپوتالاموس: هیپوتالاموس بخش کوچکی از مغز قرار گرفته در زیر تالاموس و بالای ساقه مغز می‌باشد. اصلی‌ترین عمل آن کمک به ارتباط اعصاب و سیستم اندوکرین است. اعصاب دوطرفه فراوانی وارد این بخش شده و از آن خارج می‌گردد. این ارتباط سبب تنظیم توانایی هیپوتالاموس در تنظیم ترشح هورمون‌ها در جریان خون می‌گردد که می‌تواند اثرات طولانی مدتی در فرایندهای فیزیولوژیکی همانند متابولیسم داشته باشد. در طی پاسخ به استرس، هیپوتالاموس انواع هورمون‌ها عمدتاً هورمون‌های آزاد کننده کورتیکوتروپین (CRH) را ترشح می‌کند که سبب تحریک هیپوفیز و آغاز تنظیم مسیرهای پاسخ به استرس می‌گردد (۱).

غده هیپوفیز: این غده کوچک واقع در مغز و در زیر هیپوتالاموس می‌باشد. این غده انواع هورمون‌هایی را آزاد می‌کند که نقش مهمی در تنظیم هموستازی دارند. در طی پاسخ به استرس، هیپوفیز هورمون‌هایی را به درون خون آزاد می‌کند که مهم‌ترین آن هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک (ACTH) است که سیستم واکنش به استرس را به شدت تعدیل می‌نماید (۱).

آزمایشگاهی خریداری و در قفس‌های استاندارد در دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. حیوانات به مدت ۲ هفته دوره سازگاری را در این شرایط طی کرده و در طی این مدت دسترسی آزاد به آب و مواد غذایی داشتند. پس از طی شدن دوره سازگاری رت‌ها به صورت تصادفی به چهار گروه ده‌تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

کنترل منفی: روزانه ۱ ml از بافر PBS با pH خنثی به مدت ۲۱ روز به صورت گاوژ دریافت می‌کردند.

کنترل مثبت: روزانه ۱ ml از بافر PBS به همراه استرس دریافت می‌کردند.

آزمون ۱: روزانه ۱ ml از بافر PBS حاوی 10^9 cfu/ml $2 \times$ از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی TD₂ به صورت گاوژ دریافت می‌کردند.

آزمون ۲: روزانه ۱ ml از بافر PBS حاوی $10^9 \times 2$ از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی TD₂ به همراه استرس دریافت می‌کردند.

لازم به ذکر است که رت‌ها در ابتدا و انتهای آزمون با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۱ gr توزین شدند تا میزان افزایش وزن‌ها در گروه‌های مختلف تعیین شود.

تهیه باکتری پروبیوتیک

لاکتوباسیلوس کازئی TD₂ به صورت پودر لیوفیلیزه از شرکت تک ژن تهیه شد. در مرحله بعد باکتری در محیط کشت MRS Broth کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور حاوی ۱۰٪ گاز دی‌اکسید کربن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری گردید. سپس به جهت تهیه استوک گلیسرول از باکتری‌ها، هم حجم باکتری گلیسرول استریل به محیط مایع افزوده و پس از اختلاط کامل در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تهیه کشت تازه از باکتری‌ها روزانه ۲۰۰ ml از محیط کشت MRS Broth تهیه و به آن ۱/۵ ml از استوک افزوده و در شرایط قبل گرماگذاری صورت

منفی قرارگیری در برابر استرس‌های شدید بوده و از اثرات زیان‌آور ناتوانی مکانیسم‌های زیستی برای سازش موثر در برابر تغییرات هموستازی می‌باشد (۸، ۱۴). پروبیوتیک‌ها نیز میکروارگانیسم‌های مفیدی هستند که از میکروفلور طبیعی میزبان الهام گرفته شده‌اند. بنابه تعریف پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای که در صورت مصرف به میزان مشخص اثرات مفیدی بر روی سلامت میزبان می‌گذارند و سبب ارتقای سطح سلامت مصرف کننده می‌شوند. این میکروارگانیسم‌ها عملکردی همانند میکروفلور دارند از این رو به نظر می‌رسد که همانند میکروفلور با تاثیرگذاری بر روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز- فوق کلیه سبب تعدیل این محور می‌شوند. امروزه اثرات سودمند پروبیوتیک‌ها در موارد مختلف همچون تقویت سیستم ایمنی، کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی، پیشگیری از ابتلا به بیماری‌های عفونی به ویژه در دستگاه گوارش و بیماری‌های غیرگوارشی به اثبات رسیده است. بنابراین این احتمال وجود دارد که این میکروارگانیسم‌های مفید بتوانند در کنترل استرس نیز موثر باشند (۱۶، ۴). با توجه به مشکلات ناشی از استرس حاد و استفاده از داروهای شیمیایی در کاهش استرس اثرات سوء را موجب شده است استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان یک روش جدید که می‌توان جایگزین روش درمانی با دارو باشد و یا حتی در پیشگیری، کمک زیادی به حفظ سلامت فرد می‌نماید، پیشنهاد شده است هدف از این تحقیق بررسی امکان به کارگیری لاکتوباسیلوس کازئی TD₂ به جهت کاهش اثرات سوء ناشی از استرس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه حیوانات و نگهداری آن‌ها

برای انجام این تحقیق ابتدا ۴۰ رت نر نژاد ویستار با سن و وزن تقریبی یکسان ۱۱۰-۱۳۰ و سن ۴ هفته از دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله (عج)، مرکز علوم حیوانات

جهت تعیین میزان هورمون و قند خون مورد بررسی قرار گرفتند. برای اندازه گیری هورمون ACTH از روش الکتروکمیلومینسانس و از کیت Cobas و برای اندازه گیری میزان قند خون از کیت پارس آزمون استفاده شد.

روش اندازه گیری میزان هورمون ACTH با کیت Cobas

این آزمون با روش ساندریچ انجام گرفت. در مرحله اول ۵۰ μ l از نمونه با آنتی بادی بیوتینه ACTH و آنتی بادی اختصاصی ACTH که با روتنیوم نشاندار شده بود، مخلوط شد. در زمان گرما گذاری اول، آنتی بادی اختصاصی با ACTH موجود در نمونه اتصال پیدا کرد. در مرحله دوم استرپتوآویدین متصل به میکروپارتیکل ها اضافه شد. در گرما گذاری دوم آنتی بادی بیوتینه به استرپتوآویدین که در سطح میکروپارتیکل ها پوشیده شده بود متصل گردید. پس از گرما گذاری دوم مخلوط واکنش شامل کمپلکس ایمنی به سلول اندازه گیری دستگاه ECL منتقل و با استفاده از میدان مغناطیسی کمپلکس میکروپارتیکل ها و استرپتوآویدین که با آنتی ژن و آنتی بادی متصل شده بودند در سطح الکتروود به صورت یکنواخت پخش شدند. سپس از سیستم ProCell (بافر شستشو) جهت شستن ذرات پارتیکل های اضافی و معرف ها و مواد زائد دیگر استفاده شد. میدان مغناطیسی قطع و ولتاژ از طریق الکتروودها به کمپلکس میکروپارتیکل ها و آنتی ژن و آنتی بادی منتقل شد و واکنش کمی لومینسانس آغاز گردید. نور منتشر شده با فتومولتی پلایر اندازه گیری شد و سپس سیستم از سیگنال های ایجاد شده جهت محاسبه میزان آنالیت مورد نظر استفاده شد. در این مرحله میزان نور تولید شده با غلظت ACTH موجود در نمونه رابطه مستقیم داشت. ارزیابی و محاسبه غلظت مولکول با استفاده از منحنی کالیبراسیون که آن نیز به واسطه غلظت استاندارد ها رسم شده بود توسط دستگاه به صورت خود کار انجام گرفت.

گرفت. پس از طی شدن دوره رشدی، با اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری نمونه ها در ۶۰۰ nm تعیین شد. سپس با استفاده از روش کشت سطحی و تعیین سریال رقت، تعداد باکتری های موجود در هر ۱ ml از محیط کشت در جذب نوری معین تعیین گشت. برای گواژ کردن رت ها هر روز کشت تازه باکتری همانند قبل تهیه و تا رسیدن به جذب نوری تعیین شده گرما گذاری شد. سپس با استفاده از سانتریفوژ با دور ۶۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه سلول های باکتری از فاز مایع جدا شدند. پس از ۳ بار شستشو با بافر PBS سلول ها مجدداً در همان بافر سوسپانسیون شدند تا غلظت 2×10^9 cfu/ml حاصل شود. از این سوسپانسیون برای گواژ روزانه رت ها (دریافت خوراکی پروبیوتیک) بهره برده شد.

ایجاد استرس بی حرکتی مزمن در رت ها

رت ها روزانه در ساعت مشخص به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه نگهدارنده، برای ایجاد استرس بی حرکتی مزمن قرار داده شدند. لازم به ذکر است که رت های گروه آزمون ۲ پس از دریافت پروبیوتیک در دستگاه نگهدارنده قرار داده می شدند.

خونگیری از رت ها

پس از ۲۱ روز، رت های موجود در تمامی گروه ها با اتر بیهوش شده و بلافاصله خونگیری از قلب آن ها به عمل آمد.

تعیین میزان هورمون ACTH و قند خون

جهت سنجش هورمون ACTH، خون گرفته شده به لوله های حاوی اتیل دی آمین تترا استات K_2EDTA منتقل و به آرامی تکان داده شد تا با محتوی لوله کاملاً مخلوط شود. برای سنجش قند خون مقداری از خون گرفته شده به لوله های کد گذاری شده منتقل شد. سپس خون ها در ۵۰۰۰ rpm در دمای ۴- درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده، پلاسما و سرم آن ها جدا گردید. پلاسما و سرم های جدا شده در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری و در اسرع وقت به

پس از ۲۱ روز آزمون میزان هورمون ACTH، میزان وزن رت‌ها و قند خون تعیین شد.

تغییرات سطح هورمون ACTH

نتایج حاصل از این آزمون (نمودار ۱) نشان داد که استرس به صورت معنی‌داری سبب افزایش میزان هورمون ACTH در گروه کنترل مثبت نسبت به گروه کنترل منفی شد ($P \text{ value} = 0/0057$). در حالی که مصرف پروبیوتیک در گروه آزمون ۱ بدون استرس میزان ترشح هورمون استرسی در این گروه حتی از گروه کنترل منفی که استرسی دریافت نکرده به صورت معنی‌داری کمتر بود ($P \text{ value} = 0/0026$). این امر نشان دهنده احتمال ایجاد استرس در این گروه ناشی از فرآیند گاوژ است. در شرایط استرسی، پروبیوتیک مصرفی توانسته بود از ترشح ACTH ممانعت نماید به نحوی که میزان ترشح این هورمون در گروه آزمون ۲ تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مثبت داشت ($P = 0/0011$ value). بررسی بیشتر نتایج نشان داد که در این گروه آزمون، میزان سطح هورمون به میزان طبیعی رسیده و تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل منفی نداشت.

روش اندازه‌گیری میزان قند خون با کیت پارس آزمون:

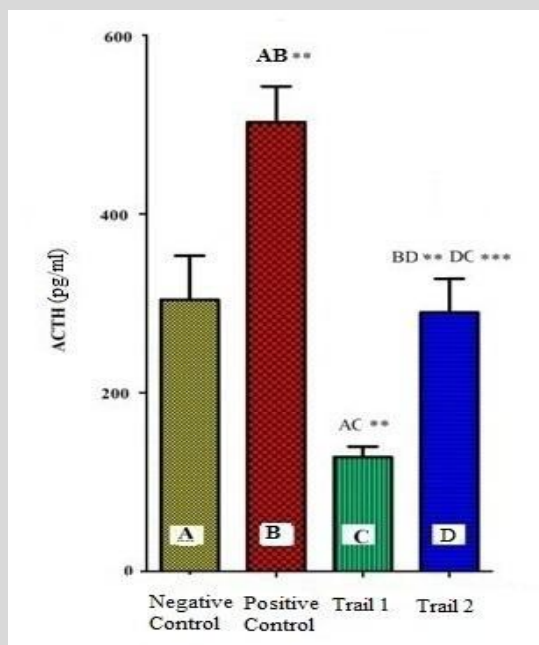
جهت تعیین میزان قند خون از سرم بدون همولیز یا پلاسما هیپارینه‌دار استفاده شد. برای انجام آزمون ابتدا مقدار $40 \mu\text{l}$ از سرم درون یک لوله اپندورف ریخته شد. در لوله‌ای دیگر $40 \mu\text{l}$ از محلول استاندارد ریخته شد و سپس به محتویات هر ۲ لوله معرف گلوکز $15 \mu\text{l}$ اضافه شد. به جهت شاهد از لوله حاوی تنها معرف بهره برده شد. هر سه لوله به مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری 37°C سانتی‌گراد یا ۲۰ دقیقه در دمای 25°C سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس جذب نوری نمونه آزمون و استاندارد در مقابل بلانک، در 500 nm خوانده شد.

تحلیل آماری

برای تفسیر داده‌ها و اطلاعات حاصله از نرم افزار Graphpad Prism 5 و آزمون‌های آماری t-test و Anova یکطرفه بهره برده شد.

نتایج

همان‌طور که ذکر شد در طی این تحقیق ۴۰ رت نر نژاد ویستار به صورت تصادفی در ۴ گروه تقسیم بندی شدند.

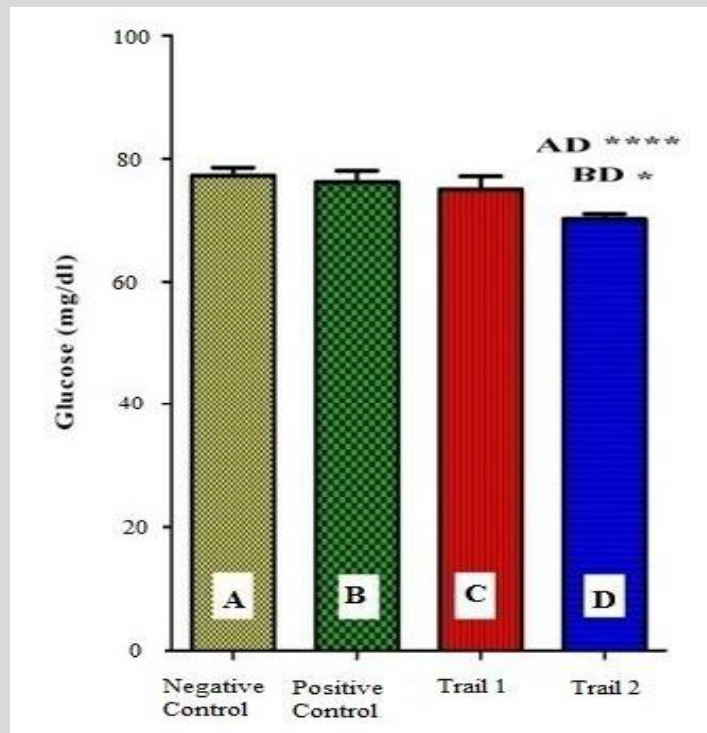


نمودار ۱- مقایسه تغییرات سطح هورمون ACTH در گروه‌های مختلف

میزان گلوکز سرمی خون

همان طور که در نمودار ۲ دیده می شود میزان گلوکز سرمی تفاوت معنی داری در دو گروه کنترل مثبت و منفی نداشت (P value=۰/۶۷۱۸). مصرف پروبیوتیک به تنهایی تاثیری بر میزان گلوکز نداشته به نحوی که سطوح آن در گروه کنترل منفی و آزمون ۱ برابر است

(P value=۰/۴۰۶۰). اما در گروه آزمون ۲ که تحت شرایط استرسی پروبیوتیک دریافت کرده بود میزان قند خون نسبت به گروه های کنترل به صورت معنی داری کمتر بود (P value=۰/۰۱۷۰).



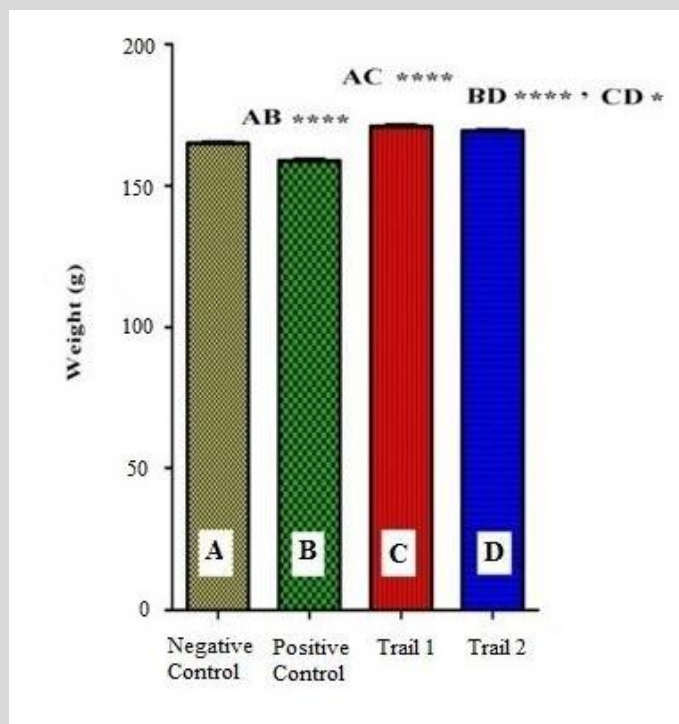
نمودار ۲- میزان گلوکز سرمی در گروه های مختلف

میزان وزن رت ها

نتایج حاصله نشان داد که استرس در گروه کنترل مثبت نسبت به کنترل منفی سبب کاهش معنی دار وزن رت ها می شود (Pvalue<۰/۰۰۰۱). همچنین مصرف پروبیوتیک در گروه آزمون ۱ نسبت به کنترل منفی سبب افزایش وزن رت ها (Pvalue<۰/۰۰۰۱) و مانع از کاهش وزن شدید رت ها در شرایط استرس شده بود (P value<۰/۰۰۰۱) ولی به واسطه استرس وزن رت ها گروه کنترل مثبت همانند گروه کنترل منفی نبود (P value=۰/۰۳۳۴) (نمودار ۳).

تقریباً هر نوع استرس چه فیزیکی و چه عصبی موجب یک افزایش فوری و بارز در ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک (ACTH) توسط غده هیپوفیز قدامی و به دنبال آن در ظرف چند دقیقه منجر به افزایش شدید در ترشح کورتیزول از قشر فوق کلیوی می شود. کورتیزول نیز باعث تحریک گلیکونئوژنز و در نتیجه افزایش قند خون می گردد و سیستم ایمنی بدن را سرکوب می کند که اگر طولانی مدت شود، تاثیرات منفی روی جاندار دارد. تاکنون تحقیقات محدودی در زمینه اثر پروبیوتیک بر روی هورمون ACTH در سال های اخیر صورت گرفته است.

بحث و نتیجه گیری



نمودار ۳- مقایسه تغییرات افزایش وزن رت‌های گروه‌های مختلف

سال ۲۰۱۲ جواد بروبی و همکارانش گزارش کردند که سطوح ACTH و کورتیکوسترون در رت‌ها به هنگام جدایی از مادر در مقایسه با گروهی که استرس جدایی از مادر نداشتند، افزایش می‌یابد که با مصرف پروبیوتیک سطح هورمون‌ها کاهش می‌یابد. نتایج حاصله از این تحقیق نیز نشان داد مصرف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی سویه TD₂ بر میزان ترشح هورمون استرسی تنها در صورت وجود استرس می‌تواند موثر باشد. این سویه با کاهش میزان هورمون ACTH در شرایط استرس و رساندن به حد طبیعی می‌تواند از اثرات سوء آن مانند افزایش قند خون بکاهد. هم‌چنین این سویه می‌تواند مانع از کاهش وزن شدید حیوان در شرایط استرسی شده و حتی سبب افزایش وزن در حیوانات بدون استرس می‌گردد. با مشاهدات بر روی نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد که این باکتری سویه مناسبی برای افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل غذایی در حیوانات است به نحوی که می‌تواند راندمان تولید را افزایش دهد. با توجه به این‌که خصوصیات پروبیوتیکی این باکتری در

در سال ۲۰۰۸، دیوپ و همکارانش به بررسی اثرات پروبیوتیک Probio-stick بر استرس در افراد داوطلب اقدام نمودند. تحقیقات آن‌ها نشان داد که پروبیوتیک کاربردی می‌تواند به میزان قابل توجهی دو نشانه گوارشی استرس یعنی درد پشت و تهوع/ استفراغ را کاهش دهد (۶). اما مشخص گردید که پروبیوتیک مورد استفاده تاثیری بر نشانه‌های فیزیولوژی و فیزیکی و مشکلات خواب ناشی از استرس نداشت (۶). در سال ۲۰۱۱ براوو و همکارانش با نقش پروبیوتیک *Lactobacillus rhamnosus* را بر روی استرس بررسی نمودند. تحقیقات آنان نشان داد که پروبیوتیک به کار رفته می‌تواند سبب تغییر میزان بیان GABAB1b mRNA در مغز شود (۳). GABA مهم‌ترین نوروترانسمیتر ممانعتی بوده و در تنظیم بسیاری از فرایندهای فیزیولوژی از جمله استرس نقش دارد. تحقیقات آنان نشان داد که پروبیوتیک مصرفی میزان کورتیکوسترون ایجاد می‌کند و واسطه استرس را کاهش داده و از رفتارهای مرتبط به استرس و دلشوره به میزان زیادی جلوگیری می‌کند. در

درگیر استرس‌های مزمن به کار گرفته شود. از این رو پس از انجام آزمون‌های بالینی می‌توان مصرف این باکتری را به عنوان یک فراورده فراسودمند پیشنهاد نمود.

آزمون‌های صورت گرفته، اثبات شده است می‌توان نتیجه گرفت که مصرف این باکتری علاوه بر ارتقای سطح ایمنی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا، با کاهش اثرات مخرب استرس می‌تواند در افرادی

منابع

1. Angulo, P. (2002). Nonalcoholic fatty liver disease. *N. Engl. J. Med*, 346 (16); 1221–31.
2. Bayard, M., Holt, J., Boroughs, E. (2006). Nonalcoholic fatty liver disease. *American Family Physician*, 73 (11); 1961–1968.
3. Bravo, J.A. (2011). Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(38); 16050-16055.
4. Chalamalasetty Sreenivasa, B., George, A., Bikasani, K., Rakesh, P., Sujata, R., Amaresh, P. (2006). Effect of exercise and dietary modification on serum alanineaminotransferase levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 21; 191–198.
5. Devries, M. C., Samjoo, I. A., Hamadeh, M. J., Tarnopolsky, M. A. (2008). Effect of endurance exercise on hepatic lipid content, enzymes, and adiposity in men and women. *Obesity*, 16; 2281–2288.
6. Diop, L., Guillou, S., Durand, H. (2008). Probiotic food supplement reduces stress-induced gastrointestinal symptoms in volunteers: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Nutrition Research*, 28(1); 1-5.
7. Juul, A., Asker, E. J. (2004). Optimizing fat oxidation through exercise and diet. *J Nutrition*, 20(7-8); 716-727.
8. Miller, D. B., O'Callaghan, J. P. (2002). Neuroendocrine aspects of the response to stress. *Metabolism*, 51; 5-10.
9. Rafiq, N., Younossi, M. (2008). Effects of weight loss on nonalcoholic fatty liver disease. *Fatty liver disease*. Guest Editor, Arun J. Sanyal, M.B.B.S., M.D. *Semin Liver Dis*, 28; 427–433.
10. Rector, R. S., Thyfault, J. P., Morris, R. T., Laye, M. J., Borengasser, S. J., Booth, F. W. (2007). Daily exercise increases hepatic fatty acid oxidation and prevents steatosis in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats. *AJP - GI*, 294 (3): G619-G626.
11. Straczkowski, M., Kowalska, I., Dzienis-Straczkowska, S., Kinalski, M., Gorski, J., Kinalska, I. (2001). The effect of exercise training on glucose tolerance and skeletal muscle triacylglycerol content in rats fed with a high-fat diet. *Diabetes Metab*, 27; 19–23.
12. Suzuki, A., Lindor, K., St Saver, J. (2005). Effect of changes on body weight and lifestyle in non alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 43; 1060–1066.
13. Teran, J. C. (1999). Nutrition and liver diseases. *Current Gastroenterology Reports*, 1; 335–340.
14. Troman, G., Woods, P. (2001). *Primary teachers' stress*: Routledge/Falmer London.
15. Ueno, T., Sugawara, H., Sujaku, K. (1997). Therapeutic effects of restricted diet and exercise in obese patients with fatty liver. *J Hepatol*, 27; 103–107.
16. Zeisel, SH. (1999). Choline and phosphatidylcholine. *Nutrition in health and disease*. Ninth Edition. Williams & Wilkins, Baltimore, 513-523.

