*Research on Medicine* *Original Article*

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2021 ;Vol.45; No.2

# Effect of probiotic prophylaxis of Lactobacillus fermentum on neuronal density of hippocampus in CA3, CA2, and CA1 regions in rats with Alzheimer's disease

**Elnaz Moghaddam, Maryam Tehranipour*, Mahbube Nakhaei Moghaddam**

*Department of biology ,Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran*

(Received: 2020/07/1 Accepted: 2020/08/25)

## Abstract

***Backgrond**: Decreased volume of the hippocampus causes disorders in memory and learning. One of the reasons for the change in the volume of the hippocampus is a change in the number of neurons. Probiotics are living microorganisms whose adequate consumption causes the health effects of the host to appear. Due to the various uses of probiotics and their beneficial effects on the body, they are expected to be able to improve these disorders in cases such as Alzheimer›s disease, in which a person›s memory and learning are impaired. So, the present study was conducted to investigate the effect of probiotic prophylaxis of Lactobacillus fermentum on neuronal density of hippocampus in CA3, CA2, and CA1 regions in rats with Alzheimer›s disease.*

***Materials and Methods:** In the current experimental study, 30 Wistar rats weighing 250-200 g were randomly divided into five groups (control, Alzheimer, 3 treatment groups). In order to induce Streptozotocin Alzheimer, 5 mg/kg doses of stereotaxin (volume of 5 microliters) was injected at each lateral ventricle of the brain. In the treatment groups, Lactobacillus probiotic fermentum was also injected by the dosage of 7-10 ,6-10, and 8-10 ML/CFU simultaneous with STZ intraperitoneal injection in 21 days. In the current study, the shuttle box was used to investigate the behavior and to avoid passive learning. One-way analysis of variance (ANOVA) was used to analyze the data resulted from analysis of variance with repetitive measures and to analyze the memory. Data were analyzed using minitab statistical software running Post hoc and ANOVA at a significance level of P<0.05. The curves were drawn using Excel software.*

***Findings:** A significant decrease was found in the neuronal density of the control group against Alzheimer›s group (STZ) (P <0.001), and the comparison between treatment groups (10-6, 10-7, 8-8) and Alzheimer›s group (STZ) showed a significant increase (P <0.001).*

***Conclusion:** It seems that probiotics, with their antioxidant and anti-inflammatory effects, have prevented the development of neuronal lesions and implemented improvement mechanisms. Our study shows that probiotic Lactobacillus fermentum at dilution of 6-10 has a neurogenic effect and may be used to improve memory and learning.*

***Keywords:** Neuronal density; Hippocampus; Probiotic; Alzheimer*

* *Corosponding author: Maryam Tehranipour*

*Email:maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir*



[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-17 ]

پژوهش در پزشکی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
مقاله پژوهشی
دور ۴۵، شماره ۲، ۱۴۰۰، صفحات ۱۷ تا ۲۳

# بررسی اثر پیشگیری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس فرمنتوم Lactobacillus fermentum بر دانسیته نورونی هیپوکامپ در نواحی CA3,CA2,CA1 در رت های آلزایمری

**الناز مقدم، مریم طهرانی پور*، محبوبه نخعی مقدم**

گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۳/۱۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۴/۲۱

## چکیده:

**سابقه و هدف:** کاهش حجم هیپوکامپ اختلالاتی را در حافظه و یادگیری ایجاد می نماید، یکی از دلایل تغییر حجم هیپوکامپ تغییر در تعداد نورون های آن است. پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های زنده ای هستند که مصرف کافی آن ها سبب نمایان شدن اثرات سلامت بخش در بدن میزبان می‌شود. با توجه به مصارف متعدد پروبیوتیک ها و اثرات مفید آن ها بر بدن انتظار می رود بتوانند در مواردی مانند بیماری آلزایمر که حافظه و یادگیری فرد دچار اختلال می‌شود، این اختلالات را بهبود بخشند و هدف این تحقیق تعیین تاثیر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس فرمنتوم Lactobacillus fermentum بر دانسیته نورونی نواحی مختلف هیپوکامپ در رت های آلزایمری است.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی ابتدا ۳۰ سر رت نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ -۲۰۰ گرم انتخاب و رت های تهیه شده به طور تصادفی به ۵ گروه (کنترل،آلزایمر، ۳ گروه تیمار) تقسیم شدند. جهت القای آلزایمر استرپتوزوتوسین با دوز ۵ mg/kg با حجم ۵ میکرولیتر در هر بطن جانبی مغز به روش استریوتاکسی تزریق شد. در گروه های تیمار همزمان با تزریق STZ به مدت ۲۱ روز به صورت داخل صفاقی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس فرمنتوم با دوزCFU/ML $10^{-6}$، $10^{-7}$، $10^{-8}$ تزریق شد. بعد از گذشت یک ماه از اولین تزریق حیوانات بیهوش و مغز به آرامی از جمجمه خارج گردید. پس از مراحل پاساژ بافتی برش های سریال ۷ میکرونی با رنگ هماتوکسین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. سپس از مناطق مختلف هیپوکامپ عکسبرداری شد و توسط روش های استریولوژی و متد دایسکتور ، دانسیته نورونی مناطق مختلف هیپوکامپ در گروه های مختلف ارزیابی و با گروه کنترل مقایسه شد. داده ها به کمک نرم افزار آماری minitab و آزمون Anova و post hoc آنالیز شدند وسطح معنی داری( $P<0/05$) در نظر گرفته شد. منحنی‌ها به کمک نرم افزار Excel رسم شدند.

**یافته‌ها:** در دانسیته نورونی گروه های کنترل (سالم) با گروه آلزایمری (ZTS) کاهش معنی داری مشاهده می‌شود ($P<0/001$)، همچنین مقایسه گروه های تیمار ($10^{-6}$و$10^{-7}$و$10^{-8}$) با گروه آلزایمری (ZTS) نیزافزایش معنی داری را نشان می دهد ($P<0/001$).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می رسد که پروبیوتیک با داشتن اثرات آنتی اکسیدانی و اثرات ضد التهابی باعث جلوگیری از پیشرفت ضایعات نورونی شده و مکانیسم‌های بهبود را نیز راه اندازی کرده است. این مطالعه نشان می دهد که پروبیوتیک Lactobacillus fermentum در رقت $10^{-6}$ دارای اثر نورون زایی است و احتمالا از آن می توان برای بهبود حافظه و یادگیری استفاده نمود.

**واژگان کلیدی:** دانسیته نورونی، هیپوکامپ، پروبیوتیک، آلزایمر.

## مقدمه

در روند تکامل مغز گونه های مختلف، در برخی از نواحی مغز فرآیند ایجاد نورون تایید شده است. این فرآیند به نام نوروژنزیس شناخته می‌شود. نخستین بار در سال ۱۹۶۰ مطالعه های آلتمن نوروژنزیس را در بالغان نشان داد(۱). فرآیند نوروژنزیس در دو ناحیه از مغز قدامی پستانداران بالغ شامل ناحیه ساب ونتریکولار و ژیروس دندانه ای هیپوکامپ در گونه های مختلف شامل جوندگان، پریما تها و انسان رخ می دهد(۲) .در سال ۱۹۹۸، اریکسون و همکاران با کالبد شکافی بافت مغز انسان

**نویسنده مسئول:** دکتر مریم طهرانی پور
**پست الکترونیک:** *maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir*



[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-17 ]

را، مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که نورون های جدید در هیپوکامپ انسان ساخته شده است که مربوط به منطقه ای از مغز است که در یادگیری نقش دارد (۳-۴). هیپوکامپ بخشی از سیستم لیمبیک بوده که به علت ساختار نعل اسبی شکل آن به این نام نامیده شده است (۵). هیپوکامپ دارای بخشهای CA۱، CA۲ و CA۳ سوبیکولوم و شکنج دندانه ای است که ارتباطات متعدد اما به طور عمده غیرمستقیم با بیشتر بخش های قشر مغز و نیز با تشکیلات قاعده‌ای سیستم لیمبیک یعنی آمیگدال، هیپوتالاموس، سپتوم و اجسام پستانی دارد (۶-۷). کاهش حجم هیپوکامپ اختلالاتی را در حافظه و یادگیری ایجاد می نماید، یکی از دلایل تغییر حجم هیپوکامپ تغییر در تعداد نورون‌های آن است (۸). همچنین هیپوکامپ در کدگذاری توالی‌های مکانی، وقایع حافظه ضمنی و ارتباط بین آنها نقش بسزایی دارد تقریبا تمام اطلاعات حسی به وسیله ی نورون های هیپوکامپ برنامه ریزی می شوند(۹).

بیماری آلزایمر یک بیماری شایع نوروژنراتیو پیش رونده است که منجربه زوال عقل و تباهی سلول های مغزی به خصوص در نواحی مرتبط با یادگیری و حافظه مانند هیپوکامپ می‌شود(۱۰). مکانیسم‌های پیچیده‌ای در فرآیند یادگیری و حافظه نقش دارند که در نهایت منجر به تغییرات بیوشیمیایی ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک در سطح سیناپسی و شبکه‌های عصبی می‌گردد. امروزه استفاده از مواد طبیعی مانند عصاره گیاهی و یا پروبیوتیک‌ها جهت بهبود بخشیدن به این اختلالات شایع است. پروبیوتیک ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که مصرف کافی آن‌ها سبب نمایان شدن اثرات سلامت بخش در بدن میزبان می‌شود(۱۱-۱۲).

فلور روده انسان حاوی انواع مختلفی از باکتری‌ها است. معمول‌ترین میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک به سه گروه باکتری، قارچ و مخمرها تقسیم می شوند. بعضی از این میکروارگانیسم‌ها سویه‌های انتخابی باکتری‌های Lactobacillus هستند، اکثر باکتری های Lactobacillus بی‌خطر تشخیص داده شده‌اند (۱۳-۱۴). باکتری های پروبیوتیک دارای اثرات ضد موتاژنیته و ضد سرطان زا هستند، و دارای توانایی تحریک سیستم ایمنی بدون ایجاد التهاب می باشند. همچنین پروبیوتیک ها می توانند به عنوان درمان کمکی در بیماری های گوارشی استفاده شوند(۱۵-۱۶-۱۷).

با توجه به مصارف متعدد پروبیوتیک ها و اثرات مفید آن ها بر بدن انتظار می رود بتوانند در مواردی مانند بیماری آلزایمر که حافظه و یادگیری فرد دچار اختلال می‌شود، این اختلالات را بهبود بخشند و بر این اساس این تحقیق پایه ریزی شد.هدف از این تحقیق بررسی اثر محافظتی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس فرمنتوم Lactobacillus fermentum بر دانسیته نورونی هیپوکامپ در نواحی CA۱,CA۲,CA۳ در رت های آلزایمری می باشد.

## مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی ۳۰ راس موش نر نژاد ویستار سه ماهه با وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم از سرم سازی رازی مشهد تهیه و به اتاق حیوانات دانشکده علوم دانشگاه آزاد واحد مشهد منتقل شدند. حیوانات در اتاقی با دمای ۲۲±۲ با سیکل ۱۲ ساعته تاریکی و روشنایی و آب و غذای آزادانه نگهداری شدند. همه آزمایشات رفتاری بین ساعت ۸ صبح تا ۴ عصر انجام شد. همه آزمایشات بر طبق دستورالعمل‌های کمیته اخلاقی برای استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

### آماده سازی سوسپانسیون لاکتوباسیلوس فرمنتوم:

ابتدا باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم در محیط کشت MRS براث به مدت ۱۶-۲۴ ساعت در دمای C۳۷ و در شرایط میکروائروفیل (در حضور ۰/۰۵ گاز CO۲) و در انکوباتور شیکر دار کشت داده شد. پس از مدت زمان لازم کدورت یکنواخت در سطح محیط کشت ظاهر شد و ML۵ از محیط کشت حاوی باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم با دوز ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای C۴ سانتریفیوژ شد و رسوب حاصل سه مرتبه با بافر PBS (بافر نمکی) شستشو داده که در نهایت به صورت سوسپانسیون در آمد(۱۸-۱۹-۲۰).

### روش القا آلزایمر به شیوه جراحی:

حیوانات توسط تزریق داخل صفاقی کتامین mg/kg۸۰ و زایلازین mg/kg۱۵ بیهوش شدند. سپس سر حیوان در دستگاه استریوتاکس ثابت شد و ایجاد شکاف طولی در بخش خلفی سر،جمجمه نمایان گردید سپس کانول های مخصوص تزریق در داخل بطن های طرفی در موقعیت ۰/۸ عقب برگما، ۱/۵ ± در طرفین شکاف ساجیتال، ۲/۵ میلی متر پائین تر از سطح جمجمه قرار داده شدند(۱۸) بعد از جراحی استریوتاکس و کانول گذاری، همزمان تزریق داخل صفاقی گروه های تیمار به مدت یک ماه انجام شد(۲۱-۲۲-۲۳).

در این معالعه حیوانات به طور تصادفی به ۵ گروه (کنترل، آلزایمر، ۳ گروه تیمار) تقسیم شدند. جهت القای آلزایمر استرپتوزوتوسین با دوز mg/kg۵ با حجم ۵ میکرولیتر در هر بطن جانبی مغز به روش استریوتاکسی تزریق می‌شود. در گروه های تیمار همزمان با تزریق STZ به مدت ۲۱ روز به صورت داخل صفاقی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس فرمنتوم با دوزCFU/ML ۶-۱۰، ۷-۱۰ و ۸-۱۰ تزریق می‌شود.

بعد از گذشت بیست و یک روز از اولین تزریق حیوانات با کتامین و زایلزین به نسبت وزن بدن ۱۵و۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش گردیدند .برای نفوذ بهتر فیکساتور به مغز قبل از تشریح به کمک متد پرفیوژن تا حدی بافت های بدن فیکس می شوند. پس از اتمام پرفیوژن مغز به آرامی از جمجمه خارج شده و در فرمالین نمکی ۱۰ درصد قرار داده می‌شود و پس از طی مراحی پاساژ بافتی از مغز برشهای ساژیتال سریال ۷ میکرونی تهیه شده و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شد(۲۴). ناحیه هیپوکامپ و مناطق CA۱، CA۲ و CA۳ شناسایی شد.

از مناطق مختلف هیپوکامپ عکسبرداری شد. در حدود ۴۰۰ برش شمارش انجام شد و از دو برش متوالی عکس های جداگانه تهیه شد و با حفظ شماره و ترتیب برای مطالعات بعدی قرار داده شدند. بزرگنمایی میکروسکوپی ۲۰۰=۱۰×۴×۵ بود. برای شمارش نورونی از روش نمونه برداری تصادفی استفاده شد و برای شمارش ذرات یعنی نورون ها از روش دایسکتور و متد استریولوژی استفاده می گردد. برای آنالیز داده‌های خام نیاز به متغییر هایی مانند $\sum Q$، $\sum$ frame میانگین، Vdisector و ... است که این متغیر ها چنین تعریف می شوند

$\sum Q$ : مجموع نورون های شمارش شده در یک نمونه

$\sum$ frame : مجموع دفعات نمونه برداری شده

Vdisector حجم چهارچوب نمونه برداری که برابر است با A frame × H =Vdisector

A frameمساحت چهارچوب نمونه برداری

H:فاصله بین دو برش یا ضخامت هر برش

حاصل تقسیم مجموع نورون های شمارش شده در یک نمونه بر مجموع دفعات نمونه برداری شده

برای بررسی داده ها با استفاده از برنامه های آماری مانند t-test نیاز به پارامتر دیگری به نام NV(Numerical density) یا دانسیته تعداد است. این پارامتر از فرمول زیر محاسبه می گردد.

$$NV= \sum Q/( \sum \text{frame} \times \text{Vdisector})$$

در این تحقیق چهارچوب نمونه برداری بر روی صفحه مانیتور ۱/۵ × ۱/۱۵ است که برای به دست آوردن اندازه واقعی این مساحت به میکرون ( $\mu$ ) بر روی نمونه از لام میکرومتری استفاده شد. داده ها به کمک نرم افراز آماری minitab و آزمون t-test و Anova آنالیز شدند وسطح معنی داری) P<۰/۰۵) در نظر گرفته شد. منحنی‌ها به کمک نرم افزار Excel رسم شدند.

## یافته ها

### اندازه‌گیری دانسیته نورونی هیپوکامپ با استفاده از متد دایسکتور:

نتایج حاصل از بررسی اثر پروبیوتیک Lactobacillus fermentum بر بیماری آلزایمر در هیپوکامپ، به صورت شمارش نورونی در جدول(۱-۱) ارائه گردیده است. در این ارزیابی به کمک تکنیک دایسکتور دانسیته نورونی نورون های هیپوکامپ محاسبه و در بین گروه های مختلف بررسی و مقایسه شد. اعداد موجود در جدول،

[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-17 ]

جدول ۱- میزان تراکم نورونی در مناطق مختلف هیپوکامپ گروه های مطالعه

| گروه ها | کنترل | آلزایمر | STZ+۱۰$^{-۶}$ | STZ+۱۰$^{-۷}$ | STZ+۱۰$^{-۸}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| CA۱ | ۱۴۶۵/۰ ± ۴/۲۳ | ۱۳۴۴/۷ ± ۵/۶۱ | ۱۵۵۵/۸ ± ۵/۱۴ | ۱۴۹۸/۸ ± ۲۳/۰ | ۱۵۲۴/۸ ± ۱۷/۰ |
| CA۲ | ۱۵۳۳/۸ ± ۱۲/۹ | ۱۳۵۱/۸ ± ۵/۹۰ | ۱۵۰۰/۰ ± ۱۲/۱ | ۱۵۰۴/۰ ± ۱۵/۱ | ۱۴۸۸/۷ ± ۱۴/۷ |
| CA۳ | ۱۴۸۳/۰ ± ۱۳/۰ | ۱۳۴۹/۳ ± ۱۲/۰ | ۱۵۰۶/۳ ± ۱۹/۵ | ۱۵۲۳/۲ ± ۱۳/۵ | ۱۵۰۰/۲ ± ۱۳/۶ |

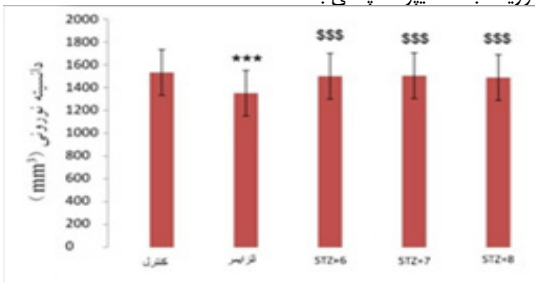
میانگین و انحراف معیار، مقادیر دانسیته نورونی یا فاکتور(Numerical Density) ND را در هیپوکامپ نیمه راست (R) ونیمه چپ (L) گروه های مختلف نشان می دهد.

نتایج نشان می دهد بین دانسیته نورونی گروه کنترل(سالم) با گروه آلزایمری (STZ) کاهش معنی داری مشاهده می‌شود )P<۰/۰۰۱ )، همچنین مقایسه گروه های تیمار (۶-۱۰، ۷-۱۰ و ۸-۱۰) با گروه آلزایمری (STZ) نیز افزایش معنی داری را نشان می دهد (P<۰/۰۰۱).

نتایج نشان می‌دهد که دانسیته نورونی در ناحیه CA۲ در گروه‌های تیمار (۱۰$^{-۶}$و ۱۰$^{-۷}$و ۱۰$^{-۸}$) در مقایسه با گروه آلزایمری (STZ) نیز افزایش معنی داری را نشان می دهد (P<۰/۰۰۱).

در نمودار ۲ مشخص شد که در ناحیه CA۳ نیز دانسیته نورونی در گروه های تیمار (۶-۱۰و۷-۱۰و۸-۱۰) نسبت به گروه آلزایمری (STZ) نیز افزایش معنی داری را نشان می‌دهد (P<۰/۰۰۱).

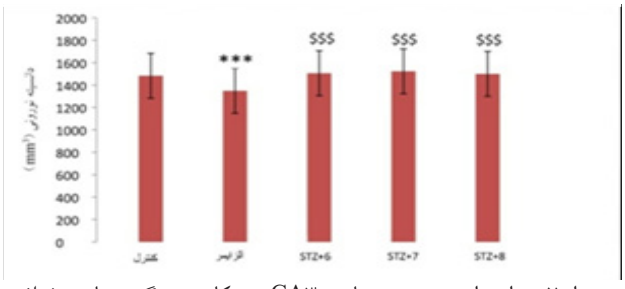
در شکل های شماره ۱و ۲و۳ در عکس های مربوط به گروه های تیمار در نواحی مختلف مشخص شد که هیستومورفولوژیک بافت هیپوکامپ در گروه کنترل نرمال می باشددر گروه آلزایمری کاهش سایز، فشردگی و جمع شدن هر یک از نورونها در اثر ابتلا به آلزایمر در شکل مشهود است همچنین پراکندگی نورونها نسبت به یکدیگر و برهم ریختن شرایط طبیعی بافت پس از القای بیماری آلزایمر در شکل به وضوح قابل ملاحظه می‌باشد این شرایط نشانگر تاثیر منفی این بیماری بر وضعیت هیستومورفولوژیک بافت هیپوکامپ می باشد




نمودار ۱- میزان دانسیته نورونی ناحیه CA۲ هیپوکامپ در گروه های مختلف

*** اختلاف معنادار را نشان می دهد(P<۰/۰۰۱) . (مقایسه گروه کنترل با گروه آلزایمری است)

$$$ اختلاف معنا دار را نشان می‌دهد (P<۰/۰۰۱). (مقایسه گروه های تیمار با گروه آلزایمری است)

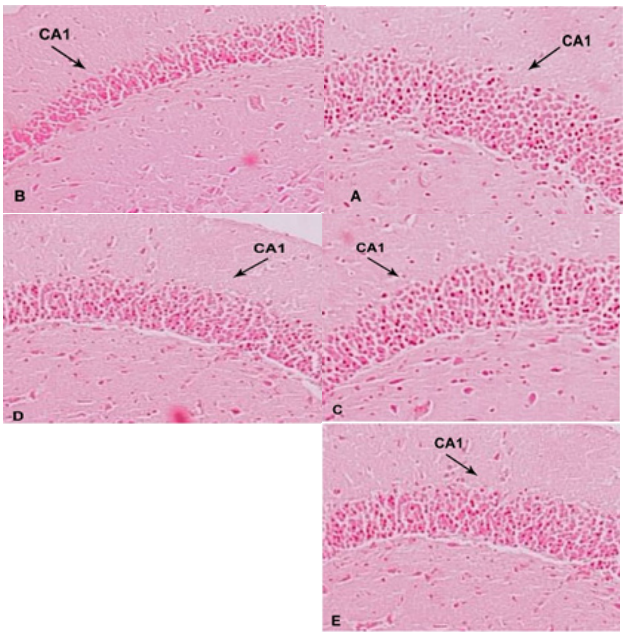



نمودار ۲-میزان دانسیته نورونی ناحیه CA۳ هیپوکامپ در گروه های مختلف

*** اختلاف معنادار را نشان می دهد(P<۰/۰۰۱) . (مقایسه گروه کنترل با گروه آلزایمری است)

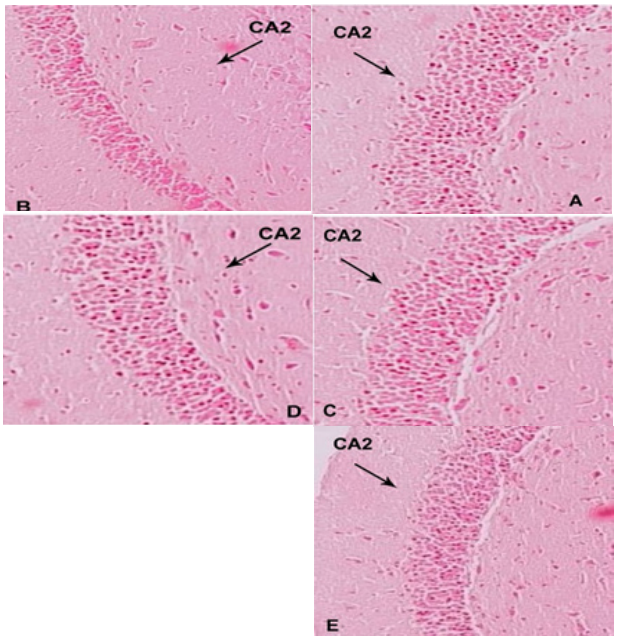
$$$ اختلاف معنا دار را نشان می‌دهد (P<۰/۰۰۱). (مقایسه گروه های تیمار با گروه آلزایمری است)

در شکل های شماره ۱و ۲و۳ در عکس های مربوط به گروه های تیمار در نواحی مختلف مشخص شد که تاثیر پروبیوتیک در بهبود وضعیت هیستومورفولوژیک بافت هیپوکامپ در مقایسه با گروه کنترل چشمگیر است افزایش و ترمیم نورون ها و وقوع پدیده نوروژنز قابل مشاهده است می تواند گواهی براثر ترمیمی این پروبیوتیک و نقش مثبت آن در بهبود بیماری آلزایمر در نورون‌های هیپوکامپ باشد.




شکل ۱- نمایش سطح مقطع ناحیه CA۱ در گروه های مختلف

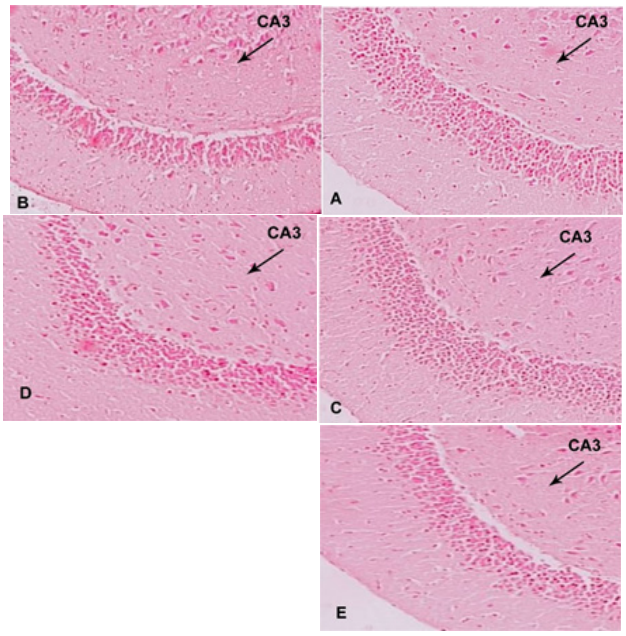
A: گروه کنترل B: گروه آلزایمر C: گروه تیمار ۱۰$^{-۶}$
D: گروه تیمار ۱۰$^{-۷}$ E: گروه تیمار ۱۰$^{-۸}$




شکل ۲ - نمایش سطح مقطع ناحیه CA۲ در گروه های مختلف

A: گروه کنترل B: گروه آلزایمر C: گروه تیمار ۱۰$^{-۶}$
D: گروه تیمار ۱۰$^{-۷}$ E: گروه تیمار ۱۰$^{-۸}$

[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-17 ]




شکل ۳- نمایش سطح مقطع ناحیه CA۳ در گروه های مختلف

A: گروه کنترل B: گروه آلزایمر C: گروه تیمار $10^{-6}$
D: گروه تیمار $10^{-7}$ E: گروه تیمار $10^{-8}$

## بحث

برای دانسیته نورونی نتایج نشان می دهد که در گروه آلزایمر (STZ) در تمام نواحی کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. در حالی که در گروه های تیمار دانسیته نورونی در نواحی مختلف افزایش معنی داری نسبت به گروه آلزایمر نشان داد.

نتایج بافتی نشان داد که در گروه آلزایمر (STZ) کاهش چگالی نورونی، کاهش قطر نواحی هیپوکامپ، مشاهده عدم انسجام سلولی و فضای خالی دیده می‌شود و در گروه های تیمار (۶-۱۰، ۷-۱۰ و ۸-۱۰) این تغییرات تقریبا بهبود یافته و بافت به شکل بافت نرمال نزدیک شده است.

نتایج نمودار ها نشان می دهد بین دانسیته نورونی گروه کنترل (سالم) با گروه آلزایمر (STZ) کاهش معنی داری مشاهده می‌شود ، همچنین مقایسه گروه های تیمار (۶-۱۰، ۷-۱۰و۸-۱۰) با گروه آلزایمر (STZ) نیز افزایش معنی داری را نشان می‌دهد.

پروبیوتیک درمسیر بهبود حافظه مکانیسم های مرتبط با پروتئین کیناز را فعال می کند. پروتئین کیناز A با تاثیر مستقیم بر وزیکول ها و پایانه‌های عصبی و همچنین وارد شدن به هسته سلولی و فعال کردن مسیر سیگنالینگ CREB و آغاز آبشاری بیان ژن های دیگر در تشکیل حافظه بلند مدت، باعث تولید پروتئین هایی می گردد که سبب افزایش میزان نوروترانسمیترهای آزاد شده در سیناپس ها گشته و ارتباطات سیناپسی را افزایش می دهد. پروبیوتیک باعث افزایش چشم گیر قابلیت های یادگیری به ویژه تقویت و نگهداری حافظه می‌شود و می تواند دارای تاثیری مثبت بر روند تکامل مغز و شکل گیری مناسب درخت های دندریتی، آکسون ها و برقراری ارتباطات صحیح بین آنها باشد(۲۶).

بر اساس تحقیقات جدید می تواند در معالجه بیماری آلزایمر موثر باشد، اثر پروبیوتیک در مناطق حساس یادگیری به خصوص هیپوکامپ را تحت تاثیر قرار می دهد و به واسطه تغییراتی در قابلیت هدایت سیناپسی و تشکیل شبکه های سیناپسی جدید و افزایش توان سیناپسی با تاثیر بر هیپوکامپ، موجب افزایش انتقال پیام ها و تقویت حافظه می گردد(۲۷).

در روند تکامل مغز در گونه های مختلف، وجود فرآیند نورون زایی در برخی از نواحی مغزی به اثبات رسیده است. این فرآیند به نام نوروژنز شناخته می‌شود. نخستین بار در سال ۱۹۶۰ مطالعات آلتمن، وقوع نوروژنز را در بالغین ثابت کرد. این مطالعات نشان داد روند نورون زایی محدود به زمان خاصی نبوده و از قبل از تولد، آغاز رشد و در زمان بلوغ رشد و در زمان بلوغ همچنان می تواند ادامه پیدا کند. نوروژنز، توانایی بخش های از مغز بالغ به منظور حفظ قابلیت ارتقای رشد و تولید نورون ها می باشد (۲۸).

در طول قرن بیستم، دانشمندان مغز و اعصاب توافق داشتند که ساختار مغز پس از یک دوره بحرانی مربوط به رشد در دوران کودکی، نسبتا تغییر ناپذیر است. امروزه این باور توسط یافته هایی که نشان می دهد بسیاری از جنبه های مغز حتی در دوران بزرگسالی هم انعطاف پذیر باقی می ماند، به چالش کشیده شده است. بر اساس تحقیقات اخیر روند نوروژنز به طور محدود در بعضی از نواحی مغز به اثبات رسیده است از جمله نواحی که وقوع نوروژنز در آن ثابت شده هیپوکامپ است که در آن سلول های اجدادی عصبی موجود در ناحیه ساب ونتریکولار تمایز یافته، مهاجرت نموده و ارتباطات جدید ایجاد می نمایند (۲۹).

نوروژنزیس امیدی برای افراد مبتلا به اختلالات از جمله پارکینسون، هانتینگتون و آلزایمر می باشد. یکی از اهداف اصلی محققان کشف داروهایی است برای تحریک مناطقی از مغز که به وسیله جایگزینی سلول ها ترمیم خود به خودی را انجام می‌دهند. تعدادی از مطالعات در این زمینه نشان دادند که آکسون‌های مغز توانایی رشد مجدد را بعد از درجاتی از صدمات دارند (۳۰).

برای اینکه سلول های جدید مغزی توسعه پیدا کنند سلول های بنیادی عصبی چند ظرفیتی در مغز تقسیم شده و به نورون ها یا سلول های گلیال جدید تبدیل می شوند. برای بالغ شدن این سلول ها از سلول های چند ظرفیتی جدا می شوند و این نورون‌ها با نورون های فعال ارتباط برقرار می کنند و بیش از یک ماه طول می کشد تا نورون های جدید قادر به ارسال و دریافت پیام های جدید شوند، که این نشان می دهد نوروژنز یک فرآیند کاملا کنترل شده است. نوروژنز توسط فاکتور های رشد کنترل می‌شود که این فاکتورها می توانند تکامل سلول های جدید را رهبری کنند. فاکتور های رشد دیگری از جمله فاکتور نوروتروفیک نیز سلول را زنده نگه می دارند (۳۱).

گونه های اکسیژن فعال می توانند در مغز با اسیدهای چرب اشباع نشده واکنش داده و پراکسیداسیون لیپید ها را افزایش دهند. آنتی اکسیدان ها سبب کاهش در پراکسیداسیون لیپید ها شده و از این طریق سبب کاهش اثرات مخرب رادیکال های آزاد در کاهش پلاستیسیتی سیناپسی و تقویت طولانی مدت هیپوکامپ می شوند (۳۲).

سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در حالت طبیعی در تعادل با سرعت تولید رادیکال ها فعال می باشد و این امر در حفظ هموستاز بدن مهم است و در انجام فعالیت های فیزیولوژیک مثل التیام زخم‌ها، دفاع در مقابل میکروارگانیسم ها و غیره نقش دارد. در طی تکامل، ارگانیسم ها خود را با یک سیستم آنتی اکسیدانی تجهیز کرده اند، اگر تولید رادیکال های اکسیژن به هر دلیلی بیشتر شود یا ظرفیت آنتی اکسیدانی کاهش یابد نتیجه آن به صورت استرس اکسیداتیو که در واقع به هم خوردن تعادل بین این دو عامل است بروز می‌کند (۳۳).

فلاونوئید اثرات نوروپروتکتیو داشته و موجب حفاظت از نورون ها در برابر آسیب ناشی از نوروتوکسین ها و عوامل التهاب زای سیستم عصبی شده همچنین دارای توانایی بالقوه در بهبود حافظه و یادگیری و عملکرد های شناختی و نوروژنز در هیپوکامپ و مهار آپوپتوزیس ناشی از گونه های نوروتوکسیک می شوند. (۳۴). در بیماران مبتلا به آلزایمر مناطق خاصی از مغز دچار التهاب شده و تجویز داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی باعث ممانعت از پیشرفت کاهش حافظه در بیماران مبتلا به آلزایمر می گردد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اثر پروبیوتیک در بهبود حافظه ناشی از اثر ضد التهابی آن است(۲۵).

داوری و همکاران در سال ۱۳۹۱ بیان کردند مکمل های پروبیوتیک، باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی می شوند. و باعث بهبود روند یادگیری و حافظه فضایی موش صحرایی دیابتی می‌شود (۳۵).

طی مطالعه ای که توسط آگاهی و همکاران بر روی مصرف پروبیوتیک انجام

[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-17 ]

شده است نشان داده شد، دارای اثرات مثبت بر عملکرد شناختی در درجات خفیف بیماری آلزایمر بوده است (۲۷).
در نتایج حاصل از مطالعات بنیادی و همکاران، نشان داده شده است که مصرف پروبیوتیک ها سبب کاهش خطر ابتلا به سرطان، تقویت سیستم ایمنی و مبارزه با عوامل سرطان زا می گردد (۳۶).
در نتایج حاصل از مطالعات بنیادی و همکاران نشان داده شده است که جداسازی و تکثیر پروبیوتیک‌های Lactobacillusبا کاربرد فراوان در تولید با اهداف درمانی می باشد (۳۷).
وجدانی در سال ۱۳۸۲ درباره پروبیوتیک ها و مکانیسم اثر آن ها در پیشگیری و درمان بیماری های انسان تحقیق کرد و فواید بالقوه استفاده از پروبیوتیک ها در درمان بیماری های مختلف می توان به برخی موارد اشاره کرد: هزینه به نسبت کم، این واقعیت که پروبیوتیک ها میزان بروز مقاومت آنتی بیوتیکی را افزایش نمی دهند، ایمنی آن ها و مکانیسم های متعددی که پروبیوتیک‌ها از طریق آن پاتوژن‌ها را مهار کرده و شانس مقاومت در برابر پروبیوتیک ها را کاهش می دهد (۳۸).
سلطان دلان و همکاران در سال ۱۳۹۱ درباره بررسی اثر پروبیوتیک Lactobacillus acidophilus و Lactobacillus caseiبر رفتار سلول های توموری کولورکتال مطالعه کردند و در تحقیق آن ها اثبات شد که استفاده از پروبیوتیک Lactobacillus باعث کاهش تکثیر سلول های توموری کولورکتال در مراحل اولیه سرطانی می‌شود (۳۹).
نصیری اصل در سال ۱۳۹۴ درباره اثرات پروبیوتیک ترکیبی Bifidobacterium longum, Lactobacillus helveticus ۰۰۵۲ بر فرآیندهای التهاب، آپوپتوز و حافظه در رت های القا شده با لیپوپلی ساکارید مطالعه کرد و در تحقیق وی اثبات شد که ایجاد تغییرات هدفمند در ترکیب باکتری‌های گوارشی با مصرف پروبیوتیک ها از طریق تاثیر بر مکانیسم‌های مولکولی در فرآیندهای التهاب، آپوپتوز و حافظه مغزی بتواند منجر به شناسایی رژیم‌های غذایی و کشف اهداف درمانی جدید و موثر در پیشگیری و یا بهبود علائمی مشابه با علائم آلزایمر گردد (۴۰).

## نتیجه‌گیری

ببه نظر میرسد که دانسیته نورونی در مناطق مختلف هیپوکامپ در گروه های تیمار نسبت به گروه آلزایمری افزایش معنی داری داشته است، افزایش دانسیته نورونی در تیمار ۷-۱۰و۸-۱۰ بیانگر روند ترمیم و بهبودی در این گروه هاست و به معنای اثر مثبت پروبیوتیک ها در جهت ترمیم نورون های آسیب دیده در آلزایمر است احتمالا پروبیوتیک با داشتن اثرات آنتی اکسیدانی (۲۷) و اثرات ضد التهابی (۲۵) باعث جلوگیری پیشرفت ضایعات نورونی شده و مکانیسم های بهبود را نیز راه اندازی کرده است. در گروه های تیمار شده، پروبیوتیک ۶-۱۰ دانسیته نورونی نسبت به گروه کنترل نیز افزایش یافته است این داده نشان می دهد در تعداد نورون ها در هیپوکامپ این نمونه ها بیشتر از نمونه های کنترل شده است این نتیجه بیانگر پدیده نوروژنز است، بنابراین می توان نتیجه گرفت که پروبیوتیک Lactobacillus fermentum در رقت ۶-۱۰ دارای اثر نورون زایی است و احتمالا می تواند در بهبود و روند درمان بیماری آلزایمر، موثر باشد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد بود.بدین وسیله از همه همکاران گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مدیریت گروه و ریاست محترم دانشکده علوم، بخاطر همکاری های بی دریغشان تشکر و قدردانی می‌شود.

## منابع:

1. Scholey A., Tildesley N.T.J., Ballard C., Wesnes K., Tasker A., Perry E.K., Kennedy D.O. An extract of Salvia (sage) with anti-cholinesterase properties improves memory and attention in healthy older volunteers. Psychopharmacology. 2008;198:127–139. doi: 10.1007/s00213-008-1101-3.
2. Ahmed S.M. Saleh, Qing Zhang, Jing Chen, Qun Shen. Millet Grains: Nutritional Quality, Processing, and Potential Health Benefits. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2013. 281-295
3. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical physiology. 3 rd. Philadelphia: Saunders 2006, 643- 645.
4. Turner P.V., Brabb T., Pekow C., Vasbinder M.A. Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider. J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. 2011;50:600–613.
5. Colombo D., Serino S., Tuena C., Pedroli E., Dakanalis A., Cipresso P., Riva G. Egocentric and allocentric spatial reference frames in aging: A systematic review. Neurosci. Biobehav. Rev. 2017;80:605–621. doi: 10.1016/j.neubiorev.2017.07.012.
6. Jackson C, McCabe B, Nicol A, Brown M, Horn G. Dynamic of memory trace: effects of sleep on consolidation. J Curr Biol 2008, 18(6): 393-400.
7. Barinaga M. Neurobiology. How cannabinoids work in the brain. Science 2001, 291(5513): 2530 2531.
8. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical physiology. 3rd. Philadelphia: Saunders 2006, 5-643.
9. Kesner RP, Hunsaker MR, Ziegleo W. The role of the dorsal CA1 and ventral CA1 in memory for the temporal order of a sequence of odors. Neurobiology of Learning and Memory 2010, 6: 93-111.
10. Rai S, Kamat PK, Nath C, Shukla R. A Study on Neuroinflammation and Nmda Receptor Function in Stz (Icv) Induced Memory Impaired Rats. J Neuroimmunol. 2013, 254(1-2): 1-9.
11. Sanges M, Valente G, Rea M, Della Gatta R, De Franchis G, Sollazzo R, et al. Probiotics in spondyloarthropathy associated with ulcerative colitis: a pilot study. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2009, 13(3): 233-4.
12. Wildt S, Nordgaard I, Hansen U, Brockmann E, Rumessen JJ. A randomised double-blind placebo-controlled trial with Lactobacillus acidophilus La-5 and Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12 for maintenance of remission in ulcerative colitis. J Crohns Colitis, 2011, 5(2):115-21.
13. Kim JY, Kwon JH, Ahn SH, Lee SI, Han YS, Choi YO, et al. Effect of probiotic mix (Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium lactis, Lactobacillus acidophilus) in the primary prevention of eczema: a double-blind, randomized, placebocontrolled trial. Pediatr Allergy Immunol; 21(2 Pt 2): e386-93.
14. Garthe A., Kempermann G. An old test for new neurons: Refining the Morris water maze to study the functional relevance of adult hippocampal neurogenesis. Front. Mol. Neurosci.

[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-17 ]

2013;7:63. doi: 10.3389/fnins.2013.00063.
15. Burns AJ, Rowland IR. Anti-carcinogenicity of probiotics and prebiotics. Curr Issues Intest Microbiol 2000, 1(1): 13-24.
16. Irianto A, Austin B.Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum). Journal of Fish Diseases 2002, 25(6): 333-42.
17. Di Domenico F, Barone E, Perluigi M, Butterfield DA. Strategy to reduce free radical species in Alzheimer disease: an update of selected antioxidants. Expert Rev Neurother. 2015, 15(1): 19-40.
18. Gül H, Özcelik S, Sagdic O and Certel M. Sourdough bread production with lactobacilli and S.cerevisiae isolated from sourdoughs.2005. Process Biochemistry, 40: 691-697.
19. Nandhini L, Rajasekar T, Sakthivel M, Deivasigamani B. Isolation of Bacteriocin Producing Lactic Acid Bacteria From Different SoilSamples. Asian J Biochemical Pharma Res; 2011, 4(1): 280-290.
20. Rashid S, Hassanshahian M. Screening, Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from a Traditional Dairy Product of Sabzevar, Iran. Int J Enteric Pathog; 2014, 2(4): 1-5. [In Persian]
21. Ahmed T, Enam SA, Gilani AH. Curcuminoids enhance memory in an amyloid-infused rat model of Alzheimer's disease. Neuroscience 2010, 169: 1296-1306.
22. Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Yousuf S, Ahmad M, Ansari MA, et al. Coenzyme Q10 modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. Behavioural Brain Research. 2006,171(1): 9-16.
23. Zhang J, Ke K-F, Liu Z, Qiu Y-H, Peng Y-P, Th17 cell-mediated neuroinflammation is involved in neurodegeneration of Aβ 1-42-induced Alzheimer's disease model rats. PLoS One 8, 2013, 757-786.
24. Zarghami M, Farzin D, Bagheri K. Evaluation the antidepressant effects of Rosa Damasca L. essential oil in mice. Mazandaran Medical J, 2001, 33: 28-33.
25. Grönlund MM, Arvilommi H, Kero P, Lehtonen OP, Isolauri E. Importance of intestinal colonisation in the maturation of humoral immunity in early infancy: a prospective follow up study of healthy infants aged 0-6 months. 2000, 83(3): F186–F192.
26. Flavell SW, Greenberg ME. Signaling mechanisms linking neuronal activity to gene expression and plasticity of the nervous system. 2008. Neuroscience. 31:563-90.
27. Agahi. A, Hamidi. Q, Salami. M, Naqipour, Daneshvar Kakhaki. R, Soheili. M, The effect of probiotic supplements on cognitive function in patients with primary and secondary Alzheimer's disease, scientific-research journal of Arak University, 2017, 29 (12):2-3.
28. Altman J. Are new neurons formed in the brains of adult mammals? Science, 135: 1127–1128 10.1126/science. 1962.135.3509.1127
29. Thakurela S. Kumar Suhu S. Garding A. Vijay K. Dynamics and function of distal regulatory elements during neurogenesis and neuroplasticitr. GENOME RESEARCH. 2015. Dio: 10-1101/gr190926.115.
30. Kempermann G, Kuhn H.G, Gage F.H. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. 1997. Nature. 386: 493-495.
31. Gage F. Brain repair yourself. Scientific American. 2003, 289(3): 87-95.
32. Serrano F, Klann E. Reactive oxygen species and synaptic plasticity in the aging hippocampus. Ageing Res Rev. 2004, 3: 43-431.
33. Boadi WY, Lyere P, Adunyah SE. In vitro exposure to quercetin and genistein alters lipid peroxides and prevents the loss of glutathione in human progenitor mononuclear (U937) cells. J Appl Toxicol. 2005, 25(1): 82-88.
34. Kalt W, Blumberg JB, McDonald JE, Vinqvist-Tymchuk MR, Fillmore SA, Graf BA, O'Leary JM, Milbury PE. Identification of anthocyanins in the liver, eye, and brain of blueberry-fed pigs. J Agric Food Chem. 2008, 56(3): 705-12.
35. Davari S, Talayi A, Soltani M, Alayi H, Salami M. the effect of co-prescribing different lactobacillus probiotics and Bifidobacterium lactase on memory learning and oxidative stress factors in diabetic rats. Medical school 2012, 9(7): 532-536.
36. Bonyadi. F, Tokmechi. A, Moheb Alian. H, A Review of Probiotics and Their Role in Preventing Cancer, Mazandaran School of Medical Sciences. 2014, 24 (112): 128-129.
37. Bonyadi.M, Ostad Rahimi. M, Nahayi. M. Dibavar. M, Mirzayi. F, Frequency of Lactobacillus strains in the food of Eastern Azarbaijan cities, Laboratory Sciences, 2011, 4(2): 38-39, 2011.
38. Vejdani. R, Zaali, Probiotics and their impact mechanism in the prevention and treatment of human diseases, Research journal of medical school, 2003, 27 (4): 320-322.
39. Soltan Delan. M, Salehipour. Z, Atapour Mashhadi. H, Raoufian. R, Rajabi. Z, The effects of probiotic Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus caesium on the behavior of colorectal tumor cells, 70 (4): 220-222.
40. Nasiriasl M. Naserpour T.Effects of Probiotic (combination of Lactobacillus helveticus R0052 and Bifidobacterium longum R0175) on inflammation, apoptosis and memory processes in LPS- induced rats. 2015.

[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-17 ]