

# اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازئی بر بیان ژن BDNF در استریاتوم مغز موش‌های صحرایی مدل پارکینسونی القا شده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۴ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۴

## خلاصه

**مقدمه:** در بیماری پارکینسون از بین رفتن نورون‌های دوپامینرژیک در هسته‌های قاعده‌ای باعث تحلیل عصبی می‌شود. با نظر به نقش مثبت فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز BDNF<sup>۲</sup> در بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی و ویژگی‌های محافظتی پروبیوتیک‌ها در مقابل عوامل موثر در بروز این بیماری‌ها، این مطالعه به منظور بررسی تاثیر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازئی بر بیان ژن BDNF در استریاتوم مغز موش‌هایی که تحت تاثیر ۶-هیدروکسی دوپامین پارکینسونی شده‌اند، صورت گرفت.

**روش کار:** ۳۰ عدد موش صحرایی نر در قالب سه گروه کنترل، پارکینسون و درمان تقسیم شدند. گروه کنترل و درمان به مدت یک ماه محلول سالین و گروه درمان، پروبیوتیک را به صورت گاوآذ دریافت کردند. القای پارکینسون به وسیله جراحی استریوتکسی و تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین به داخل جسم سیاه صورت گرفت. پس از سه هفته تست چرخشی آپومورفین از تمام گروه‌ها انجام پذیرفت. جهت اندازه‌گیری بیان ژن BDNF در بافت استریاتوم از روش RT-PCR استفاده شد.

**نتایج:** نتایج نشان داد که پیش‌درمانی با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازئی باعث افزایش بیان ژن BDNF در استریاتوم و کاهش چرخش‌های خالص در موش‌های گروه درمان نسبت به گروه پارکینسون می‌شود. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد که استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازئی با افزایش در میزان BDNF و ایفای نقش محافظتی می‌تواند از تحلیل عصبی جلوگیری کند در کاهش علائم و بهبود بیماری پارکینسون کمک کننده باشد.

**کلمات کلیدی:** پارکینسون، پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازئی، BDNF، موش‌های بزرگ آزمایشگاهی

پی‌نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

فروزنده درویش‌زاده<sup>۱\*</sup>

بهاره پاکپور<sup>۲</sup>

مجید نوائیان<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>کارشناسی ارشد، زیست‌شناسی جانوری گرایش فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی.  
<sup>۲</sup>استادیار، گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران.  
<sup>۳</sup>استادیار، گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، تهران، ایران

Email:

Darvishzadeh.forouzandeh@gmail.com

<sup>۱</sup> Darvishzadeh.forouzandeh@gmail.com

<sup>۲</sup> Brain-driven neurotrophic factor

Doi: 10.22038/MJMS.2024.71249.4232

**مقدمه**

پارکینسون یک بیماری تخریب‌کننده عصبی<sup>۱</sup> می‌باشد که منجر به از بین رفتن نورون‌های دوپامینرژیک در بخش متراکم جسم سیاه (SNpc)<sup>۲</sup> و کاهش شدید دوپامین در استریاتوم<sup>۳</sup> می‌شود (۱).

این کمبود دوپامین در هسته‌های قاعده‌ای با مشکلات و علائم حرکتی مانند برادی کینزی<sup>۴</sup> یا کندی حرکت، سفتی عضلات، لرزش در حالت استراحت و عدم تعادل همراه است. اختلالات شناختی نیز به ویژه در اعمال اجرایی بسیار شایع است (۲).

فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز (BDNF)<sup>۵</sup> عضوی از خانواده نوتروفین‌ها و فاکتورهای رشد ترشحی می‌باشد. پیام‌رسانی BDNF اثرات مثبتی روی بقای بیان ژن و سنتز پروتئین در طولانی مدت و اثرات تنظیم‌کنندگی روی انتقال نوروترانسمیترها (میانجی‌های عصبی) در کوتاه مدت دارد. BDNF به خاطر نقش مهمی که در بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی همچون هانتینگتون، آلزایمر و پارکینسون دارد به شدت مورد توجه قرار گرفته است (۳).

مورد توجه قرار گرفتن نقش BDNF در بیماری پارکینسون ناشی از مستندات است که حاکی از آثار افزایشی آن روی بقا و عملکرد جسم سیاه و نورون‌های دوپامینرژیک و تاثیر مثبت آن روی نورون‌های MSN<sup>۶</sup> استریاتوم می‌باشد. بیشتر از ۲۰ سال پژوهش نشان می‌دهد که BDNF عامل حیاتی برای زنده ماندن نورون‌های دوپامین جسم سیاه است و در برابر نوروآپوآپتوزیس متعددی نقش محافظتی دارد. امروزه اهمیت میکروبی روده برای سلامت انسان به دلیل ارتباط دو طرفه باکتری‌های آن به سایر بدن و به ویژه مغز بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است. دستگاه گوارش و سیستم عصبی مرکزی از طریق شبکه‌ای از مسیرهای پیام‌رسانی که در مجموع به عنوان محور روده - مغز شناخته می‌شود، به یکدیگر متصل می‌گردند. محور روده - مغز یک سیستم عصبی هورمونی دو طرفه‌ی پویا است که از اتصالات

عصبی مستقیم، سیگنال‌های غدد درون‌ریز و عوامل ایمنی تشکیل شده است (۴).

تجمع تدریجی ROS در نورون‌ها، آزادسازی سیتوکین‌ها را تحریک کرده و در ادامه موجب فعالیت میکروگلیا و التهاب عصبی می‌شود. این اتفاقات ناشی از استرس اکسیداتیو، یکی از عوامل مهم در پیشرفت بیماری آلزایمر و پارکینسون است (۵ و ۶). از طرفی بسیاری از پروبیوتیک‌ها با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به عنوان مهارکننده‌های قوی ROS با خواص درمانی در بهبود بسیاری از بیماری‌ها همچون سرطان، تحلیل عصبی، پیری سلولی، چاقی و دیابت شناخته می‌شوند (۷ و ۸).

آپوپتوز غیرمعمول (به ویژه در نورون‌ها و سلول‌های گلیا) یکی از دلایل بیماری‌های نورودژنراتیو است. در همین راستا مطالعات نشان داده‌اند که برخی از پروبیوتیک‌ها می‌توانند با ترشح موادی از بیان کاسپاز ۳ که از عوامل آپوپتوز است جلوگیری کنند. تحقیقات در مورد بیماری پارکینسون نشان می‌دهند که عمل ضد آپوپتوزی پروبیوتیک‌ها می‌تواند از طریق مهار مسیر سیگنالینگ AKT نیز رخ دهد؛ چرا که ارتباط تنگاتنگ مسیر AKT در پاتوفیزیولوژی پارکینسون نشان‌دهنده مکانیزم عمل آن در نورودژنراسیون است (۹).

**روش تحقیق****جامعه مورد مطالعه و شرایط نگهداری**

در این تحقیق از ۳۰ موش صحرایی نر (رت) نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. یک هفته پیش از شروع آزمایشات موش‌ها به منظور سازش با محیط آزمایشگاه به حیوان‌خانه‌ی دانشکده‌ی علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی منتقل شدند. نگهداری از حیوانات در شرایط استاندارد، دوره‌ی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (سیکل طبیعی) در دمای ۲۳±۲ سانتی‌گراد، درون قفس‌های پلکسی‌گلاس مخصوص با دسترسی کافی به آب و غذای مناسب، صورت گرفت. همگی آزمایشات در بازه‌ی زمانی مشخصی از روز انجام شد و وزن همه‌ی موش‌ها به منظور کنترل

<sup>4</sup> Bradykinesia

<sup>5</sup> Brain Derived Neurotrophic Factor

<sup>6</sup> Medium spiny neuron

<sup>1</sup> Neurodegenerative

<sup>2</sup> Substantia nigra pars compacta

<sup>3</sup> Striatum

در نهایت از همه گروه‌ها آزمون رفتاری (تست چرخشی آپومورفین) گرفته شد. سپس بافت مغز جداسازی شد و بافت مذکور (جسم مخطط) برای انجام تست مولکولی مورد مطالعه قرار گرفت.

### روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای بررسی سطح معنی‌داری داده‌های آزمون رفتاری و مولکولی از نرم افزار آماری SPSS-24 استفاده شد. پس از ارزیابی توزیع نرمال داده‌ها، آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) انجام گردید و از آزمون Tukey برای مقایسه‌های چندگانه بین گروه‌های درمانی، پارکینسون و کنترل استفاده شد. برای رسم نمودار مربوط به آزمون رفتاری از نرم افزار Excel استفاده گردید. آنالیز آماری اولیه داده‌های آزمون مولکولی (RT-PCR) و نمودار مربوط به آن نیز با نرم افزار Prism تهیه شد. نتایج به صورت خطای معیار  $\pm$  میانگین (SEM) بیان شده است. از لحاظ آماری سطح معنی‌داری یا P-value کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### نتایج

نتایج حاصل از آزمون رفتاری

اثرات تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین جهت القای پارکینسون دو گروه پارکینسون و درمانی ۳۰ روز پس از تیمار با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازئی (که همراه با سالین گاواژ شد) تحت عمل جراحی استریوتکسی به صورت یک طرفه محلول سمی ۶-هیدروکسی دوپامین را دریافت کردند. ۶ هیدروکسی دوپامین درون جسم مخطط تزریق گردید. با توجه به اینکه گروه کنترل تحت عمل جراحی قرار نگرفته است پس اولین قدم برای تایید القای پارکینسون مقایسه داده‌های حاصل از تست چرخشی آپومورفین بین دو گروه کنترل و پارکینسون می‌باشد. به همین منظور پس از طی دوره نقاهت جراحی، تزریق هیدروکلراید آپومورفین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت زیرجلدی صورت گرفت، حیوانات درون یک استوانه پلکسی گلاس قرار داده شدند، چرخش‌های کامل ۳۶۰ درجه شمارش شد. تفاضل تعداد چرخش‌های سمت آسیب و سمت مخالف برای هر موش

قبل از جراحی و قبل از شروع آزمون رفتاری به کمک ترازوی دیجیتال تعیین گردید. تمامی آزمایش‌ها منطبق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شده و در کلیه روش‌ها اصول اخلاقی مورد تایید دانشکده‌ی علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی رعایت شد. تلاش ما بر این بوده است که کشتن، اعمال جراحی، استرس و اذیت حیوانات به حداقل رسیده و با استفاده از کمترین تعداد موش به تغییرات معنی دار آماری برسیم.



شکل ۱. شرایط نگهداری نمونه‌های مورد مطالعه.

گروه‌بندی جامعه مورد مطالعه

۳۰ سر موش صحرایی نر (رت) نژاد ویستار محدودده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم که در شرایط ذکر شده نگهداری شدند، در قالب ۳ گروه ده تایی تقسیم گردیدند.

**گروه کنترل (سالم):** موش‌ها بدون هیچگونه عمل جراحی فقط به مدت یک ماه محلول سالین (سدیم کلراید) را به صورت گاواژ دریافت کردند.

**گروه پارکینسونی (القا شده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین):** موش‌ها به مدت یک ماه محلول سالین را به صورت گاواژ دریافت کردند و پس از آن تحت عمل جراحی استریوتکسی و با تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین پارکینسونی شدند.

**گروه درمانی** (تیمار شده با پروبیوتیک): موش‌ها به مدت یک ماه محلول حاوی پروبیوتیک را به صورت گاواژ دریافت کردند و پس از آن تحت عمل جراحی استریوتکسی و با تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین پارکینسونی شدند.

خالص در گروه درمان نسبت به گروه پارکینسون به میزان معنی داری کاهش داشته است. نتایج به صورت  $Mean \pm SEM$  بیان شده است ( $n=10$ ).  $P < 0.0001$ \*\*\* گروه پارکینسون نسبت به کنترل و  $p < 0.05$ # گروه درمان نسبت به گروه کنترل می‌باشد. اثرات تیمار با پروبیوتیک بر تعداد چرخش‌ها در آزمون رفتاری در قدم دوم پس از حصول اطمینان از درستی القای بیماری در گروه پارکینسون، باید گروه درمانی با گروه پارکینسون مقایسه شود تا ببینیم آیا تیمار با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازنی بر بهبود پارکینسونیسم در حیوانات مورد مطالعه اثر داشته است یا خیر. برای این منظور داده‌های حاصل از گروه درمانی نسبت به گروه پارکینسون آنالیز شد. با توجه به نمودار ۴-۱ میانگین چرخش‌های خالص در گروه درمان به میزان معنی داری ( $p < 0.05$ ) نسبت به همین تعداد در گروه پارکینسون کمتر شده است. بدین معنی که تعداد چرخش‌ها به سمت مخالف آسیب با کاهش همراه بوده است. پس تیمار با پروبیوتیک در گروه درمانی موثر واقع شده و شدت ضایعه به طور معنی دار تخفیف پیدا کرده است. نتایج به صورت میانگین و با احتساب خطای معیار بیان شده و سطح معنی داری برای ما ۰/۰۵ می‌باشد.

نتایج حاصل از آزمون مولکولی

نتایج سنجش کمی خلوص RNA استخراج شده

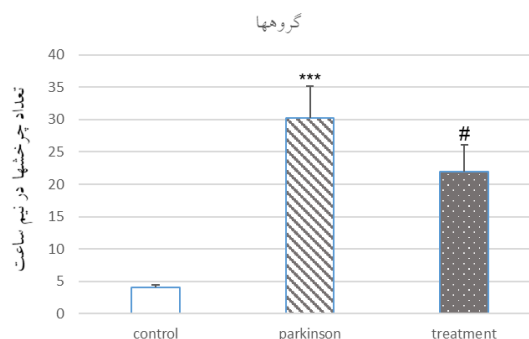
پیش از ساخت cDNA از روی رشته RNA استخراج شده، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و غلظت آن براساس ضریب رقت برحسب نانوگرم/میکرولیتر به دست آمد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول ۴-۲ آمده است. همانطور که مشاهده می‌شود نسبت  $OD_{260}/OD_{280}$  که بیانگر میزان خلوص RNA استخراج شده می‌باشد به عدد ۲ نزدیک است پس آلودگی RNA به پروتئین وجود نداشته است، از طرفی نسبت  $OD_{260}/OD_{230}$  نیز که برای بررسی میزان آلودگی RNA به مواد بکار رفته برای استخراج استفاده می‌شود به عدد ۲ نزدیک است که این نشان‌دهنده شرایط مطلوب در هنگام آزمایش می‌باشد.

محاسبه گردید تا میزان چرخش خالص برای هر حیوان به دست آید. داده‌های حاصل از هر گروه وارد نرم‌افزار spss شد و میانگین داده‌های مربوط به هر گروه مشخص شد. جدول ۴-۱ میانگین چرخش‌های خالص مربوط به گروه‌های کنترل، درمان و پارکینسون را نشان می‌دهد.

جدول ۱. میانگین چرخش‌های خالص در هر گروه ( $n=10$ ).

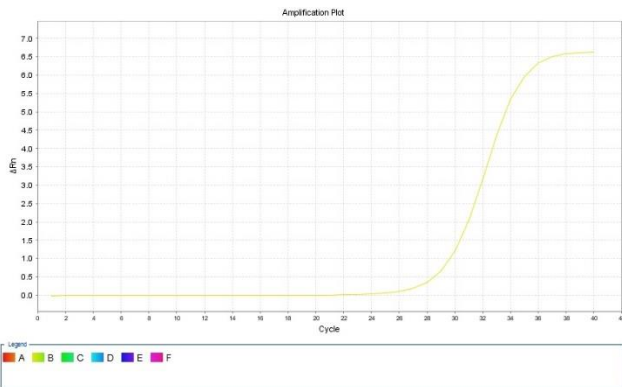
گروه‌ها	کنترل	پارکینسون	درمان
میانگین تعداد چرخش‌های خالص در هر گروه	۴	۳۰/۵	۲۲

داده‌های حاصل از تست چرخشی آپومورفین توسط تحت آنالیز واریانس یک طرفه (ONE-WAY ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی قرار گرفتند و مقایسه آن بین دو گروه کنترل و پارکینسون نشان داد که تعداد چرخش‌های خالص در گروه پارکینسونی به طور معنی داری ( $p < 0.0001$ ) افزایش یافته است. بدین معنی که تعداد چرخش‌های به سمت مخالف آسیب در گروه پارکینسونی به طور چشمگیری بیشتر از گروه کنترل بوده است که این شدت ضایعه و درستی القای پارکینسون را نشان می‌دهد. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ فرض شده است. نمودار ۴-۱، حاصل از نتایج تست چرخشی آپومورفین با استفاده از اکسل رسم گردیده است.

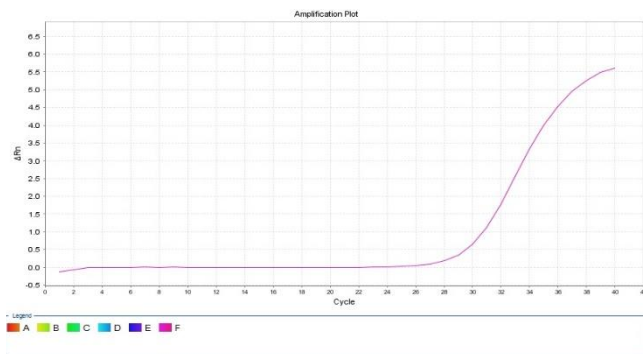


نمودار ۱. مقایسه گروه‌ها در تعداد چرخش‌های خالص.

آنالیز نتایج حاصل از تست چرخشی آپومورفین نشان داد که تعداد چرخش‌های خالص در گروه پارکینسون به طور معنی داری از گروه کنترل بیشتر بوده است. همچنین تعداد چرخش‌های



تصویر ۲. عکس مربوط به نمودار تکثیر آمپلیکون‌های ژن رفرنس، GAPDH (تا پایان سیکل ۴۰). شامل سه خطی، نمایی و کفه می باشد. با ادامه ی روند PCR از الگوهای اولیه ی یک قطعه DNA استفاده شده و تعداد زیادی کپی تولید می شود.



تصویر ۳. عکس مربوط به نمودار تکثیر آمپلیکون‌های ژن هدف، BDNF (تا پایان سیکل ۴۰).

جدول ۲. نتایج حاصل از سنجش کمی خلوص RNA استخراج شده به روش نانودراپ

گروه ها	غلظت (نانوگرم/میکرولیتر)	OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>	OD <sub>260</sub> /OD <sub>230</sub>
کنترل	۳۶۰,۳۱	۱,۹۲	۲,۰۱
پارکینسون	۳۵۴,۹۵	۱,۸۱	۱,۸۵
درمان	۵۷۴,۲	۱,۸۴	۱,۹۷

### نتایج حاصل از تکثیر آمپلیکون‌های ژن‌های هدف در RT-PCR

به طور کلی نمودار حاصل از تکثیر آمپلیکون‌ها شامل سه فاز است که در فاز اول میزان تکثیر محصولات به قدری نیست که سبب افزایش نور فلورسنت شود بنابراین نور فلورسنت مشاهده شده در این فاز از cDNA، پرایمرها و رنگ‌های فلورسنت آزاد در محیط واکنش نشر می یابد؛ بدین جهت میزان نور ساطع شده در این فاز به صورت خطی می باشد. اما در فاز دوم که به آن فاز نمایی اطلاق می شود میزان تولید محصول دو رشته‌ای در هر چرخه یا سیکل دو برابر می شود. بنابراین میزان محصولات به صورت نمایی افزایش می یابد. در فاز سوم (فاز پلاتو یا کفه) ترکیبات واکنش از بین رفته و دیگر محصولی تکثیر نشده و به همین دلیل افزایشی در میزان نور فلورسنت نیز مشاهده نمی گردد. در پژوهش ما نیز واکنش RT-PCR با دو بار تکرار انجام گرفت و در پایان واکنش به منظور تأیید تکثیر ژن مورد نظر در PCR، منحنی ذوب<sup>۱</sup> محصول واکنش رسم شد (تصویر ۴-۲ و ۴-۳). پس از اتمام واکنش، برای هر واکنش PCR یک نمودار تکثیر<sup>۲</sup> نیز رسم گردید که در تصاویر ۴-۴ و ۴-۵ قابل رویت است.

<sup>2</sup> Amplification curve

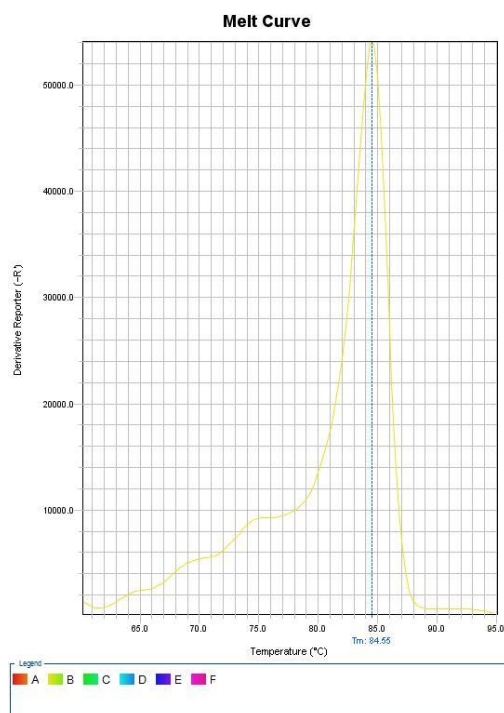
<sup>1</sup> Melting curve

## نتایج حاصل از RT-PCR

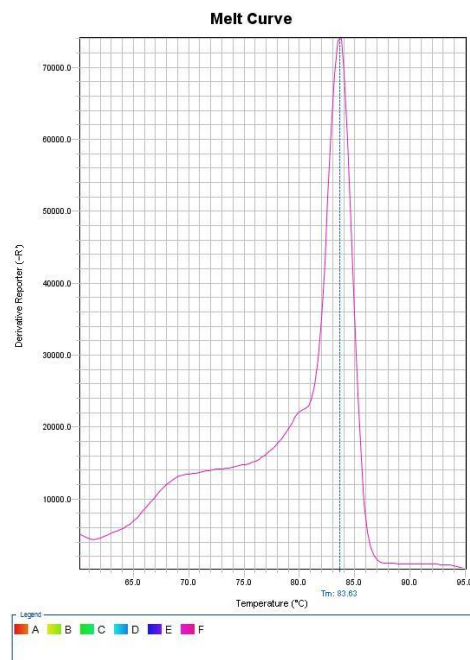
در واکنش PCR ب اولین چرخه‌ای که شدت فلورسنت بیشتر از خط پایه باشد چرخه آستانه یا  $CT^1$  می‌گویند. عدد  $CT$  با مقدار الگوی اولیه رابطه‌ی معنی‌داری دارد و از روی آن می‌توان مقدار mRNA اولیه را نیز تخمین زد. به عبارت دیگر در فاز اولیه مرحله تصاعدی مقدار فلورسنت افزایش یافته تا به آستانه‌ای می‌رسد که از میزان پایه بالاتر است، این چرخه (سیکلی از PCR که قطعه تکثیر از حد آستانه عبور می‌کند) به عنوان  $CT$  شناخته می‌شود. پس از اینکه  $CT$  مربوط به هر نمونه یعنی سیکلی که تکثیر حداکثری آغاز شده است، برای سنجش نسبی بیان ژن BDNF از روش  $\Delta\Delta Ct$  استفاده شد. جدول ۴-۳ عدد مربوط به  $CT$  ژن رفرنس (GAPDH) و ژن هدف (BDNF) به همراه  $\Delta Ct$  و  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  آمده است.

جدول ۳. نتایج مربوط به  $CT$  ژن هدف و رفرنس به همراه عدد DCT و  $2^{-DDC}$  در گروه کنترل، پارکینسون و درمان (n=5).

	GAPDH	BDNF	DCT	$2^{-DDCT}$
Control	20.82	22.84	2.02	0.246558
Control	16.97	20.41	3.44	0.092142
Control	16.93	20.19	3.26	0.104386
Control	16.81	20.33	3.52	0.087171
Control	17.21	21.01	3.8	0.071794
Parkinson	15	20.98	5.98	0.015843
Parkinson	15.99	20.43	4.44	0.046071
Parkinson	16.82	20.98	4.16	0.055939
Parkinson	15.95	21.02	5.07	0.02977
Parkinson	16.61	21.9	5.29	0.025559
Treatment	16.38	20.12	3.74	0.074842
Treatment	17.28	20.48	3.2	0.108819
Treatment	16.68	20.16	3.48	0.089622
Treatment	16.55	21.61	5.06	0.029977
Treatment	17.21	20.51	3.3	0.101532



تصویر ۴. عکس مربوط به نمودار منحنی ذوب RT-PCR مربوط به ژن رفرنس، GAPDH. تک پیک بودن منحنی ذوب این ژن در تمامی نمونه‌ها درست بودن واکنش را نشان می‌دهد.



تصویر ۴-۴: عکس مربوط به نمودار منحنی ذوب RT-PCR مربوط به ژن هدف، BDNF. تک پیک بودن منحنی ذوب این ژن در تمامی نمونه‌ها درست بودن واکنش را نشان می‌دهد.

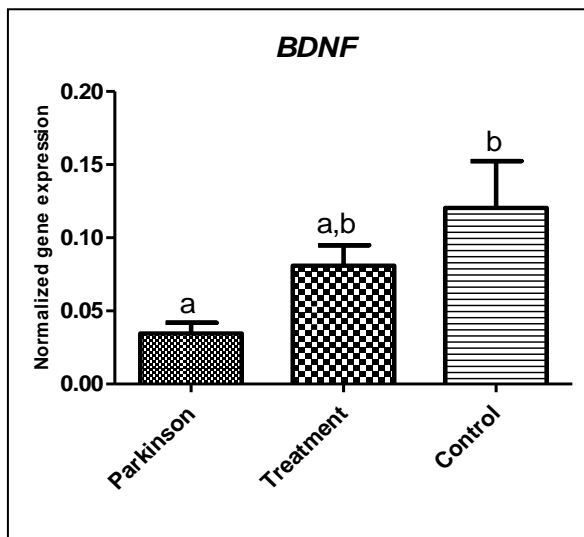
<sup>1</sup> Cycle threshold

معنی‌داری بررسی گردید. جدول ۴-۴ میانگین  $2^{\Delta\Delta CT}$  انحراف معیار و خطای استاندارد را برای هر گروه نشان می‌دهد.

پس از محاسبه  $2^{-\Delta\Delta CT}$  اعداد به دست آمده برای نمونه‌های هر گروه به نرم‌افزار spss منتقل شد، میانگین مربوط به هر سه گروه به دست آمد و سپس با استفاده از آزمون تعقیبی توکی از جهت

**جدول ۴.** گزارش مقدار میانگین  $2^{\Delta\Delta CT}$ ، انحراف معیار و خطای استاندارد را برای سه گروه کنترل، پارکینسون، درمان

	Control	Parkinson	Treatment
Mean	0.1204	0.03464	0.08096
Std. Deviation	0.07148	0.01615	0.03127
Std. Error	0.03197	0.007224	0.01398



نمودار 2. میزان نسبی بیان ژن BDNF را در گروه‌های کنترل، درمان و پارکینسون. با توجه به نمودار معنی‌داری میزان نسبی بیان ژن BDNF در گروه پارکینسون نسبت به کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافته است ( $P < 0.05$ ). همچنین میزان نسبی بیان ژن BDNF در گروه درمان نسبت به گروه پارکینسون افزایش یافته داشته، البته این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار تلقی نشد ( $P < 0.05$  \* و  $n=5$ ).

نمودار مربوط به نتایج حاصل از میزان بیان نسبی ژن BDNF با توجه به میانگین  $2^{\Delta\Delta CT}$  در نرم‌افزار Prism کشیده شده است (نمودار ۴-۲). آنالیز مربوط به آزمون تعقیبی توکی تفاوت معنی‌داری را بین میزان نسبی بیان ژن BDNF در گروه پارکینسون نسبت به کنترل نشان می‌دهد ( $P < 0.05$ ). بدین معنی که میزان بیان ژن هدف به میزان چشمگیری (حدود یک چهارم) نسبت به گروه کنترل کاهش داشته است. میزان نسبی بیان ژن BDNF در گروه درمان نسبت به پارکینسون افزایش یافته است، البته این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار تلقی نشد.

**جدول ۵.** آنالیز نتایج مربوط به میزان بیان ژن و بررسی معنی‌داری مقادیر بین گروه‌ها به وسیله آزمون توکی.

Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
Parkinson vs Treatment	0.04632	2.252	No	ns
Parkinson vs Control	0.08577	4.169	Yes	*
Treatment vs Control	0.03945	1.918	No	ns

### بحث و نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر مطالعات متعددی روی جنبه‌های مختلف بیماری پارکینسون و انواع درمان‌های ممکن انجام شده است. همچنین استفاده از پروبیوتیک‌ها جهت بهبود و تخفیف علائم بیماری‌های

هیدروکسی دوپامین به عنوان القا کننده پارکینسونسیم، به جا و مناسب بوده و همانطور که نتایج آزمون رفتاری و مولکولی نشان داد پارامترهای اندازه گیری شده در گروه پارکینسون نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری را داشته است.

Wang و همکارانش در سال ۲۰۱۸ با تزریق یک طرفه ۶-هیدروکسی دوپامین مدل‌های رت همی-پارکینسونی را القا کردند. سپس ارتباط مختل شده بین کورتکس حرکتی اولیه و هسته زیرتالاموسی را تشخیص دادند. به عبارتی نشان دادند که مسیر گلو تاما ترژیک بین این دو ناحیه تنظیم کاهشی یافته است و این موضوع را به اختلالات حرکتی همراه با پارکینسونسیم ارتباط دادند (۱۴).

شواهد بسیاری نشان می‌دهند که التهاب عصبی و فعالیت سلول‌های گلایال نقش مهمی را در پاتوژنز پارکینسون بازی می‌کنند. مولکول‌های سیگنالینگ پیش-التهابی شامل سیتوکین‌ها (مانند برخی اینترلوکین‌ها)، آنزیم‌ها (مثل نیتریک اکساید سنتاز) و استرس اکسیداتیو عوامل مهم و موثر در تحلیل عصبی و مرگ سلولی در پارکینسون هستند. از طرفی مطالعات جدیدتر تجمع گسترده‌ای از اجزای سیتوپلاسمی به نام اجسام لوی یا نوریت‌های لوی در سلول‌های عصبی جسم سیاه متراکم را از مشخصه‌های نوروپاتولوژیک این بیماری می‌دانند (۱۵). اجسام لویی بیشتر از آلفا-سینوکلین تشکیل می‌شوند. در حقیقت این ماده یک پروتئین ذاتاً بی‌نظم است که در شرایط فیزیولوژیکی فاقد ساختار سه بعدی پایدار می‌باشد. این ماده می‌تواند به عنوان یک اتصال‌دهنده به مولکول‌های مختلفی متصل شود و برهمکنش‌های غیرطبیعی را به وجود آورد که منجر به پیشبرد بیماری پارکینسون شود. به همین جهت ترکیباتی که بتوانند از تولید استرس اکسیداتیو، التهاب عصبی و تجمع آلفا-سینوکلین‌ها به خصوص جلوگیری کنند، نقش موثری در کنترل و کاهش نورودژنراسیون ایفا خواهند کرد (۱۶).

Ferretta و محققان همکار او در مطالعه‌ی خود در سال ۲۰۱۴ اثرات ترکیب آنتی‌کسیدانی رسوراترول<sup>۳</sup> را بر بیماران پارکینسونی بررسی کردند. طبق نتایج به دست آمده رسوراترول

نورودژنراتیو از جمله پارکینسون به موضوع مورد علاقه بسیاری از محققان علوم اعصاب تبدیل شده است.

در مطالعه حاضر از ۶-هیدروکسی دوپامین به عنوان ترکیب القا کننده پارکینسون استفاده شد. این نوروتوکسین به طور گسترده‌ای در مطالعات جهت القای پارکینسون به کار می‌رود. اگرچه مدل‌هایی که توسط ۶-هیدروکسی دوپامین ایجاد می‌شوند، تمام علائم بیماری پارکینسون را نشان نمی‌دهند اما فرآیندهای سلولی اصلی دخیل در ایجاد بیماری از جمله استرس اکسیداتیو، تحلیل عصبی، التهاب عصبی و مرگ سلولی ناشی از آپوپتوز را باعث می‌شود (۱۰). دیگر ترکیب سمی که در برخی مطالعات استفاده می‌شود MPTP است که توسط آنزیم مونواکسیداز B به MPP<sup>+</sup> تبدیل می‌شود. MPTP از سد خونی-مغزی عبور کرده و نه تنها باعث تخریب در مسیر نیگرواستریاتال می‌شود بلکه نورون‌های گابائریک جسم مخطط و نورون‌های ناحیه تگمنتوم شکمی و هسته رتروبرال<sup>۱</sup> را هم دچار آسیب می‌کند. MPTP منجر به واکنش گلیوز (ایجاد تغییر و تخریب در سلول‌های گلایال) نیز می‌شود (۱۱). اما ۶-هیدروکسی دوپامین به دلیل عدم عبور از سد خونی-مغزی به طور اختصاصی باعث تخریب نورون‌های دوپامینرژیک در جسم سیاه متراکم می‌گردد. برای ایجاد اثرات نورودژنراتیو ۶-هیدروکسی دوپامین به صورت *in vivo*، مدل‌ها حیوانی می‌توانند به وسیله تزریق درون دسته میانی مغز جلویی<sup>۲</sup>، جسم سیاه و یا جسم مخطط القا شوند. تخریب در دسته میانی مغز جلویی و جسم سیاه موجب بروز اثرات فوری و سریع ۶-هیدروکسی دوپامین و دژنراسیون کلی در هسته هدف می‌شوند (۱۲). این مدل‌ها به خاطر ایجاد استرس اکسیداتیو در طولانی مدت (۲۱ روز پس از تخریب) جهت مطالعه مکانیسم‌های زمینه‌ساز سمیت عصبی (و مرگ) مناسب نمی‌باشند؛ اما تزریقات یک‌طرفه یا دوطرفه ۶-هیدروکسی دوپامین درون جسم مخطط باعث تخریب پیشرونده نورون‌های دوپامینرژیک جسم سیاه متراکم شده و آسیب نیگرواستریاتال (جسم سیاه-جسم مخطط) مشاهده شده در بیماری پارکینسون را به پیش می‌برد (۱۳). بنابراین به نظر می‌رسد که در پژوهش حاضر انتخاب ۶-

<sup>3</sup> resveratrol

<sup>1</sup> retrorubral nucleus

<sup>2</sup> Medial forbrain bundle



رادیکال‌های آزاد اکسیژن را در گروه درمانی نسبت به گروه پارکینسونی نشان داده که همسو با مطالعه رفتاری بود (۲۰). طبق تحقیقات دهه‌های گذشته شواهد بسیاری نقش فاکتورهای نوروتروفیک همچون BDNF و GDNF را در محافظت از سلول‌های دوپامینرژیک جسم سیاه در برابر مرگ و ترمیم آکسون‌های آسیب‌دیده را نشان می‌دهند. در همین جهت مطالعه Lai و همکاران در سال ۲۰۱۹ اثرات محافظتی والپروات را علیه نورودژنراسیون دوپامینرژیک القا شده با ۶-هیدروکسی‌دوپامین در مغز میانی موش صحرایی نر نشان دادند. در گروه تیمار شده با والپروات کاهش یا تخریب نورون‌های دوپامینرژیک به حداقل رسید و مطالعه رفتاری بهبود عملکرد حرکتی را نشان می‌داد. این پژوهشگران نقش احتمالی این ماده را در تنظیم افزایشی BDNF را توجیه نتایج خود عنوان کردند (۲۱).

در پژوهش اخیر در سال ۲۰۲۰، Fan همکارانش با استفاده از تکنیک RT-PCR و وسترن بلات نشان دادند که در مدل رت پارکینسونی، آنتی‌سنس ژن *Bdnf* (BDNF-AS)<sup>۳</sup> تنظیم افزایش یافته و با افزایش غلظت MPP<sup>+</sup> مرتبط بوده است که خود موجب افزایش آپوپتوز و اتوفازی در بیماری پارکینسون می‌شود. بنابراین نتیجه گرفتند که خاموش کردن ژن BDNF-AS می‌تواند باعث کاهش اتوفازوزوم‌ها، افزایش تکثیر سلولی و نورون‌های TH مثبت شود (۲۲).

با توجه به اینکه محور روده-مغز (GBA) از ارتباطات دو طرفه بین سیستم عصبی روده و سیستم عصبی مرکزی تشکیل شده است و در واقع همان پیوند مراکز عاطفی و شناختی مغز با کارکردهای محیطی روده را شامل می‌شود، در تحقیقات اخیر اهمیت میکروارگانیزم‌های روده در تأثیرگذاری این تعاملات نشان داده شده است. به نظر می‌رسد تعاملات بین میکروارگانیزم‌های روده و GBA دو طرفه بوده و به واسطه پیام‌هایی از میکروارگانیزم‌های روده به مغز و از مغز به میکروارگانیزم‌های روده و با استفاده از ارتباطات عصبی، غدد درون ریز و دستگاه ایمنی هومورال شکل

با تنظیم برخی فاکتورهای سلولی بر عمل میتوکندریایی اثر گذاشته، بیوزن آن را افزایش داده و منجر به کاهش استرس اکسیداتیو شده است. بدین ترتیب پتانسیل بالقوه این ترکیب را در درمان و بهبود بیماران پارکینسونی نشان دادند (۱۷).

Ojha و همکاران در سال ۲۰۱۶ پژوهش خود را روی مدل رت پارکینسونی انجام داده و با استفاده از بتاکاریوفیلین که یک فیتوکانابینوئید است، استرس اکسیداتیو، التهاب عصبی، فعالیت گلایالی را به طور معنی‌داری کاهش دادند و نورون‌های دوپامینی را از خطر تخریب حفظ کردند. آنها اظهار داشتند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ماده توانسته است اثرات تخریبی ناشی از افزایش ROS را خنثی کند (۱۸).

در همین راستا در مطالعه‌ی دیگری در سال ۲۰۱۷ Baluchnejadmojarad و همکاران اثر پروتئین ضدپیری کلو<sup>۱</sup> را بر آسیب در مسیر دوپامینرژیک نیگرواستریاتال در مدل پارکینسونی رت سنجیدند. در این مطالعه تزریق درون مغزی پروتئین کلو<sup>۱</sup> به صورت پیش‌درمانی صورت گرفت و نتایج نشان داد که کلو<sup>۱</sup> می‌تواند رفتار چرخشی ناشی از تست آپومورفین را در سطح معنی‌داری بهبود بخشد. به علاوه این ماده توانست میزان ROS، آلفا-سینوکلین در استریاتوم کاهش دهد و از تخریب نورون‌های TH مثبت<sup>۲</sup> در جسم سیاه متراکم جلوگیری کند. پس با تأکید بر این خواص محافظت‌کنندگی عصبی در پروتئین کلو<sup>۱</sup>، اثرات بهبوددهنده‌ی آن را در آزمون رفتاری-حرکتی گرفته شده از گروه تیمار، به این خاصیت ارتباط دادند (۱۹).

براساس مطالعه Rahmani و همکارانش در سال ۲۰۱۹، بتائین می‌تواند همی پارکینسونیسم ناشی از تخریب یک طرفه استریاتوم را در مدل رت نژاد ویستار به طرز شگفتی کاهش دهد. گروه درمانی بهبود قابل ملاحظه‌ای در علائم حرکتی پارکینسونیسم داشتند. نتایج مطالعات بافتی آنها نیز در استریاتوم کاهش تخریب نورون‌ها دوپامینرژیک و بررسی سیستم اکسیدانی نیز کاهش

<sup>3</sup> brain-derived neurotrophic factor antisense

<sup>1</sup> klotho

<sup>2</sup> Tyrosine Hydroxylase positive

می‌گیرد (۲۳). از طرفی مطالعات متعددی اثرات سودمند پروبیوتیک‌ها از جمله افزایش تمامیت اپیتلیالی روده، محافظت در برابر آسیب سد مخاطی، تحریک هومئوستاز سیستم ایمنی موکوزی و مهار رشد باکتری‌های پاتوژن را نشان می‌دهند (۲۴). مطالعه Liang در سال ۲۰۱۵ نشان داد که غنی‌سازی رژیم غذایی با پروبیوتیک‌ها نه تنها عملکرد روده را بهبود می‌بخشد بلکه جذب لوودوپا (داروی تجویز شده برای پارکینسون) را نیز افزایش داده و مشکلات حرکتی و شناختی (اضطراب، افسردگی و حافظه) بیماران مبتلا را نیز مرتفع می‌سازد (۲۵). در همین راستا مطالعات در زمینه تاثیر پروبیوتیک‌ها بر بیماری‌های نورودژنراتیو ادامه یافت.

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که پیش‌درمانی با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازنی به واسطه افزایش سطح BDNF در استریاتوم مدل پارکینسونی رت، نقش محافظت‌کنندگی عصبی داشته است. این ویژگی باعث شده است که حیوانات در گروه تیمار شده با پروبیوتیک در شاخص حرکتی تست چرخشی آپومورفین نسبت به گروه کنترل بهبود یابند و عدد مربوط به چرخش‌های خالص آنها به طور معنی‌داری کاهش پیدا کند. علاوه بر موارد ذکر شده با توجه به خواصی که از پروبیوتیک‌ها سراغ داریم و به دلیل تنظیم افزایشی که در سطح BDNF دیده شد احتمال می‌رود که کاهش استرس اکسیداتیو و فاکتورهای التهاب عصبی نیز در گروه درمان از جمله عوامل موثر در این مطالعه بوده باشند.

## منابع

1. De Virgilio, A., Greco, A., Fabbri, G., Inghilleri, M., Rizzo, M.I., Gallo, A., Conte, M., Rosato, C., Appiani, M.C. and de Vincentiis, M., 2016. Corrigendum to " Parkinson's disease: Autoimmunity and neuroinflammation"[Autoimmun Rev 15 (10)(2016) 1005-1011]. *Autoimmunity reviews*, 15(12), p.1210.
2. Ferrazzoli, D., Ortell, P., Madeo, G., Giladi, N., Petzinger, G.M. and Frazzitta, G., 2018. Basal ganglia and beyond: The interplay between motor and cognitive aspects in Parkinson's disease rehabilitation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 90, pp.294-308.
3. Lu, B., Nagappan, G., Guan, X., Nathan, P.J. and Wren, P., 2013. BDNF-based synaptic repair as a disease-modifying strategy for neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(6), pp.401-416.
4. Westfall, S., Lomis, N., Kahouli, I., Dia, S.Y., Singh, S.P. and Prakash, S., 2017. Microbiome, probiotics and neurodegenerative diseases: deciphering the gut brain axis. *Cellular and molecular life sciences*, 74(20), pp.3769-3787.
5. Wang, X. and Michaelis, E.K., 2010. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. *Frontiers in aging neuroscience*, 2, p.12.
6. Franceschi, C. and Campisi, J., 2014. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 69(Suppl\_1), pp.S4-S9.
7. Hu, C.T., Wu, J.R., Cheng, C.C., Wang, S., Wang, H.T., Lee, M.C., Wang, L.J., Pan, S.M., Chang, T.Y. and Wu, W.S., 2011. Reactive oxygen species-mediated PKC and integrin signaling promotes tumor progression of human hepatoma HepG2. *Clinical & experimental metastasis*, 28(8), pp.851-863.
8. Trombino, S., Cassano, R., Ferrarelli, T., Barone, E., Picci, N. and Mancuso, C., 2013. Trans-ferulic acid-based solid lipid nanoparticles and their antioxidant effect in rat brain microsomes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 109, pp.273-279.
9. Gim, S.A., Sung, J.H., Shah, F.A., Kim, M.O. and Koh, P.O., 2013. Ferulic acid regulates the AKT/GSK-3 $\beta$ /CRMP-2 signaling pathway in a middle cerebral artery occlusion animal model. *Laboratory animal research*, 29(2), pp.63-69.
10. Hernandez-Baltazar, D., Zavala-Flores, L.M. and Villanueva-Olivo, A., 2017. The 6-hydroxydopamine model and parkinsonian pathophysiology: Novel findings in an older model. *Neurología (English Edition)*, 32(8), pp.533-539.
11. Blesa, J. and Przedborski, S., 2014. Parkinson's disease: animal models and dopaminergic cell vulnerability. *Frontiers in neuroanatomy*, 8, p.155.
12. Zhang, Z.R., Zhang, X.R., Luan, X.Q., Wang, X.S., Wang, W.W., Wang, X.Y., Shao, B. and Xie, C.L., 2019. Striatal overexpression of  $\beta$ -arrestin2 counteracts L-dopa-induced dyskinesia in 6-hydroxydopamine lesioned Parkinson's disease rats. *Neurochemistry international*, 131, p.104543.
13. Decressac, M., Mattsson, B. and Björklund, A., 2012. Comparison of the behavioural and histological characteristics of the 6-OHDA and  $\alpha$ -synuclein rat models of Parkinson's disease. *Experimental neurology*, 235(1), pp.306-315.
14. Wang, Y.Y., Wang, Y., Jiang, H.F., Liu, J.H., Jia, J., Wang, K., Zhao, F., Luo, M.H., Luo, M.M. and Wang, X.M., 2018. Impaired glutamatergic projection from the motor cortex to the subthalamic nucleus in 6-hydroxydopamine-lesioned hemi-parkinsonian rats. *Experimental neurology*, 300, pp.135-148.
15. Stüendl, A., Kunadt, M., Kruse, N., Bartels, C., Moebius, W., Danzer, K.M., Mollenhauer, B. and Schneider, A., 2016. Induction of  $\alpha$ -synuclein aggregate formation by CSF exosomes from patients with Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Brain*, 139(2), pp.481-494.
16. Santos, S.F., de Oliveira, H.L., Yamada, E.S., Neves, B.C. and Pereira, A., 2019. The gut and Parkinson's disease--a bidirectional pathway. *Frontiers in Neurology*, 10, p.574.
17. Ferretta, A., Gaballo, A., Tanzarella, P., Piccoli, C., Capitano, N., Nico, B., Annesse, T., Di Paola, M., Dell'Aquila, C., De Mari, M. and Ferranini, E., 2014. Effect of resveratrol on mitochondrial function:

- implications in parkin-associated familial Parkinson's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1842(7), pp.902-915.
18. Ojha, S., Javed, H., Azimullah, S. and Haque, M.E., 2016.  $\beta$ -Caryophyllene, a phytocannabinoid attenuates oxidative stress, neuroinflammation, glial activation, and salvages dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson disease. *Molecular and cellular biochemistry*, 418(1-2), pp.59-70.
  19. Baluchnejadmojarad, T., Eftekhari, S.M., Jamali-Raeufy, N., Haghani, S., Zeinali, H. and Roghani, M., 2017. The anti-aging protein klotho alleviates injury of nigrostriatal dopaminergic pathway in 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease: Involvement of PKA/CaMKII/CREB signaling. *Experimental Gerontology*, 100, pp.70-76.
  20. Rahmani, B., Zendehtel, M., Babapour, V., Sadeghinezhad, J. and Alirezaei, M., 2019. Evaluation of Betaine Neuroprotective Effects on 6-Hydroxydopamine-Induced hemi-Parkinsonism in Male Wistar Rats. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 13(3), pp.290-302.
  21. Lai, C.L., Lu, C.C., Lin, H.C., Sung, Y.F., Wu, Y.P., Hong, J.S. and Peng, G.S., 2019. Valproate is protective against 6-OHDA-induced dopaminergic neurodegeneration in rodent midbrain: A potential role of BDNF up-regulation. *Journal of the Formosan Medical Association*, 118(1), pp.420-428.
  22. Fan, Y., Zhao, X., Lu, K. and Cheng, G., 2020. LncRNA BDNF-AS promotes autophagy and apoptosis in MPTP-induced Parkinson's disease via ablating microRNA-125b-5p. *Brain Research Bulletin*, 157, pp.119-127.
  23. Carabottia, M., Scirocco, A., Masellib, M.A. and Severia, C., 2015. The gut-brain axis: Interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol*, 28(1), pp.1-7.
  24. Ait-Belgnaoui, A., Durand, H., Cartier, C., Chaumaz, G., Eutamene, H., Ferrier, L., Houdeau, E., Fioramonti, J., Bueno, L. and Theodorou, V., 2012. Prevention of gut leakiness by a probiotic treatment leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 37(11), pp.1885-1895.
  25. Liang, S., Wang, T., Hu, X., Luo, J., Li, W., Wu, X., Duan, Y. and Jin, F., 2015. Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress. *Neuroscience*, 310, pp.561-577.

*Original Article***The effect of *Lactobacillus paracasei* probiotic on BDNF gene expression in the striatum of Parkinsonian model rats induced by 6-hydroxydopamine**

Received: 15/03/2023 - Accepted: 03/05/2023

Forouzandeh Darvishzadeh<sup>1\*</sup>  
Bahareh Pakpour<sup>2</sup>  
Majid Navaian<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Master's degree, Animal Biology, Physiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch.

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of biology, Central Tehran branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Assistant Professor, Department of Biology, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran

Email:  
Darvishzadeh.forouzandeh@gmail.com

**Abstract**

**Introduction:** Parkinson's disease (PD), a common neurodegenerative disease, is hallmarked by damage to the dopaminergic neurons of the substantia nigra and striatum. Due to the positive role of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in neurodegenerative disease and neuroprotective effects of probiotics, the effect of *Lactobacillus paracasei* probiotic bacteria on BDNF Gene Expression in the Striatum of 6-hydroxydopamine Rat Model of Parkinson Disease was investigated in the present study

**Method:** 30 mature male Wistar rats were divided into 3 groups: Control, Parkinson and Treatment. The rats were gavaged by saline in Control and Parkinson groups and by *Lactobacillus paracasei* probiotic bacteria in Treatment group for one month. The model of Parkinson's disease was induced injection of 6-hydroxydopamine in Substantia nigra using a stereotaxic instrument. The amphetamine rotation test was taken. Quantitative Real-time RT-PCR was used to determine the changes occurred in BDNF gene expression.

**Results:** The results showed that BDNF gene expression increased in treatment group compared to Parkinson group and net rotations has reduced significantly as well.

**Conclusion:** It seems that pre-treatment of Parkinson's model of rats with *Lactobacillus paracasei* probiotic bacteria has increased BDNF, which may be caused by neuroprotective effects of probiotics, suggesting a novel therapy for Parkinson's disease.

**Key words:** Parkinson, *Lactobacillus paracasei* probiotic bacteria, BDNF, Rat

**Acknowledgement:** There is no conflict of interest