Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:57 +0430 on Thursday June 21st 2018

Arak Medical University Journal (AMUJ)
2015; 18(101): 72-80

Original Article

Investigation of the Probiotic effect of Iranian Native *Lactobacillus paracasei* against Toxicity Induced by Aflatoxin B1 *in vivo*

Maryam Nafezi[1], Maryam Tajabadi Ebrahimi[2*], Maryam Eidi[3]

1- Department of Microbiology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
2- Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3- Department of Biology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

Received: 27 Apr 2015, Accepted: 1 Jul 2015

Abstract

Background: Aflatoxins are known as the most important toxins which their consumption could cause acute poisoning and create carcinogenic effects. Moreover, previous studies demonstrated the ability of lactic acid bacteria to connect to aflatoxin in food material. The aim of this study is to investigate the effect of the native probiotic *Lactobacillus para casei* strains TD3 against toxicity induced by aflatoxin B1 *in vivo*.

Materials and Methods: 24 wistar male rats (250±10 g) were divided into 3 groups including: one negative control group and two groups treated with aflatoxin (170 µg/kg) and *Lactobacillus para casei* strain TD3 isolated from Tarkhine with aflatoxin (10^9 cfu/day) for 4 weeks. At the end of the experiment, the blood and tissue samples were collected for histopathological and biochemical studies.

Results: The results indicated that treatment with Aflatoxin leads to a significant increase in the amount of liver enzymes such as AST, ALP and also liver damages. Furthermore, the group that received *Lactobacillus para casei* strain TD3, the level of these enzymes was reduced and liver damages due to aflatoxin were improved.

Conclusion: The present study showed that aflatoxin can lead to liver damages and native *Lactobacillus para casei* strain TD3 which isolated from Tarkhine, probably leads to protective effects by binding to aflatoxin. Thus, it is considered as a biologic agent to remove aflatoxin *in vivo*.

Keywords: Liver damage, Aflatoxin, *Lactobacillus para casei*, Rat

*Corresponding Author:
Address: Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
Email: m.tajabadi@iauctb.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:57 +0430 on Thursday June 21st 2018

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۱۸، شماره ۸ (شماره پیاپی ۱۰۱)، آبان ۱۳۹۴، ۸۰-۷۲

بررسی اثر پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی بومی ایران در مقابل سمیت ناشی از آفلاتوکسین B1 در شرایط درون تنی

مریم نافذی[۱]، مریم تاج آبادی ابراهیمی[۲*]، مریم عیدی[۳]

۱-کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
۲-استادیار میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳-دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۷ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: آفلاتوکسین‌ها به عنوان مهم‌ترین سمومی شناخته شده‌اند که مصرف آن‌ها می‌تواند باعث مسمومیت حاد و ایجاد اثرات سرطان‌زایی شود. علاوه بر این، مطالعات قبلی نشان داده که باکتری‌های اسیدلاکتیک توانایی اتصال به آفلاتوکسین در ماده غذایی را دارند. هدف از این مطالعه، بررسی اثر لاکتوباسیلوس پاراکازئی سویه TD3 بومی ایران درمقابل سمیت ناشی از آفلاتوکسین B1 در شرایط درون تنی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ۲۴ رت نر نژاد ویستار با وزن ۱۰±۲۵۰ گرم به سه گروه تقسیم شدند: گروه کنترل منفی و دو گروه تیمار شده با آفلاتوکسین با دوز ۱۷۰ ماکروگرم بر کیلو گرم و لاکتوباسیلوس پاراکازئی سویه TD3 جدا شده از ترخینه با دوز $۱۰^{۹}$ واحد تشکیل دهنده کلونی در روز همراه با آفلاتوکسین به مدت ۴ هفته. در انتهای آزمایش نمونه‌های خون و بافت برای مطالعات بیوشیمیایی و آسیب شناسی جمع‌آوری شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تیمار با آفلاتوکسین باعث افزایش قابل توجهی در میزان آنزیم‌های کبدی از قبیل AST (آسپارتات آمینو ترانسفراز)، ALP (آلکالین فسفاتاز) و هم چنین آسیب‌های کبدی می‌شود. علاوه بر این، در گروهی که لاکتوباسیلوس پاراکازئی سویهTD3 را دریافت کردند، سطح آنزیم‌های مذکور کاهش یافته و آسیب‌های کبدی ناشی از آفلاتوکسین بهبود پیدا کردند.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که آفلاتوکسین می‌تواند منجر به آسیب کبدی شود و لاکتوباسیلوس پاراکازئی سویه TD3 بومی ایران جدا شده از ترخینه احتمالا از طریق اتصال به آفلاتوکسین منجر به اعمال اثرات حفاظتی خود می‌گردد، از این رو، به عنوان یک عامل بیولوژیک در حذف آفلاتوکسین در شرایط درون تنی مطرح می‌شود.

واژگان کلیدی: آسیب کبدی، آفلاتوکسین، لاکتوباسیلوس پاراکازئی، رت

***نویسنده مسئول:** تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، گروه زیست شناسی

Email:m.tajabadi@iauctb.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:57 +0430 on Thursday June 21st 2018

مقدمه

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های بسیار متنوع تولید شده به وسیله قارچ‌ها هستند که موجب مسمومیت در مصرف‌کنندگان می‌شوند. در میان مایکوتوکسین‌ها، آفلاتوکسین‌ها به شدت سمی و سرطان‌زا هستند. آفلاتوکسین اغلب از طریق آسپرژیلوس فلاووس وآسپرژیلوس پارازیتیکوس تولید می‌شود و به عنوان یکی از مهم‌ترین آلوده کننده‌های محصولات کشاورزی مطرح است(۱). هر دو گونه نسبت به حرارت مقاوم بوده و در محیط‌های مختلف و حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت بیش از ۸۵ درصد دارای بهترین شرایط رشد هستند(۲). آفلاتوکسیکوزیس، مسمومیت و عوارض حاصل از خوردن سم آفلاتوکسین روی مواد غذایی است و این سم در گونه‌های مختلف حیوانات و انسان می‌تواند سبب آثار زیان‌بار شود(۱)؛ از جمله سرطان کبد، کلیه، اختلال رشد در حیوانات و مسمومیت. آفلاتوکسین B1 موجود در سلول‌های کبدی با DNA واکنش متقابل ایجاد کرده، تولید RNA را مهار می‌کند و در نهایت سرطان کبد به وجود می‌آید(۳). مطالعه روی کبد انسان نشان داده که آفلاتوکسین B1 به یک ترکیب شیمیایی بسیار واکنش‌پذیر متابولیزه شده که ۸، ۹-اپوکسید نام دارد. این ترکیب به سرعت به DNA باند شده و باعث تغییر شکل آن می‌شود که به این ترکیب، ترکیب افزایشی گویند. تشکیل این ترکیب افزایشی فرآیندهای طبیعی سلول را مختل نموده و منجر به از دست رفتن کنترل رشد و تقسیم سلولی می‌گردد(۴). شواهد زیادی مبنی بر آثار ضد سرطانی پروبیوتیک‌ها به ویژه در مورد سرطان‌های کولون، کبد، روده کوچک و پستان مشاهده شده است. پروبیوتیک‌ها می‌توانند با اتصال به مواد سرطان‌زا (کارسینوژن‌ها و پروکارسینوژن‌ها) آن‌ها را بلوکه و حذف کنند، فلور باکتریال روده را کنترل کنند، سیستم ایمنی و پاسخ‌های ضد توموری تحریک کنند و در نهایت محصولات آنتی موتاژنیک و آنتی تومورژنیک در روده تولید نمایند(۵).

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که می‌توانند ضمن عبور از دستگاه گوارش زنده مانده و اثرات مفید و سودمندی بر روی میزبان بر جا گذارند. انواع باکتری‌های اسید لاکتیک و گونه‌های بیفیدوباکتریوم به عنوان پروبیوتیک استفاده می‌شوند. پروبیوتیک‌ها در پیش‌گیری و درمان بیماری‌های گوارشی و غیر گوارشی و در حذف سم آفلاتوکسین موثرند(۶). سم‌زدایی بیولوژیکی مایکوتوکسین‌ها درمواد غذایی و هم چنین در انسان و دام یک روش جدید و بسیار امیدوارکننده است(۷). بیشتر مطالعات قبلی در این زمینه در شرایط درون تنی بر روی سویه‌های غیر بومی انجام شده است. برخی از سویه‌های لاکتوباسیلوس پاراکازئی جدا شده از ترخینه‌های بومی ایران از نظر توانایی کاهش آفلاتوکسین B1 در شرایط برون تنی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. برای مثل، تاج‌آبادی و همکاران در سال ۱۳۹۰ کاهش آفلاتوکسین B1 در حضور لاکتوباسیل‌های جدا شده از ترخینه و دوغ ترخینه را با روش الیزا ارزیابی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از ترخینه از جمله سویه TD3 دامنه وسیعی از تغییرات را در میزان کاهش آفلاتوکسین نشان می‌دهند(۸). اما اثرات این سویه‌ها روی مدل حیوانی بررسی نشده است. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات حفاظتی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازیی سویه TD3 در مقابل سمیت القاء شده از طریق آفلاتوکسین در شرایط درون تنی است. هم چنین، چون این باکتری از محصولات بومی ایران جدا شده است، می‌تواند به کشف ذخایر میکروبی ایران کمک کند.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در این مطالعه تجربی، ۲۴ رت نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۰±۲۵۰ گرم از خانه حیوانات دانشگاه شهید بهشتی خریداری شدند. رت‌ها به ۳ گروه هشت تایی تقسیم شده و به مدت یک هفته قبل از شروع آزمایش در دمای اتاق و نور طبیعی نگهداری شدند تا با شرایط محیطی و

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:57 +0430 on Thursday June 21st 2018

رژیم غذایی مورد نظر سازگاری یابند. لازم به ذکر است که تمامی مراحل آزمایش با رعایت کامل موازین اخلاقی و بر اساس پروتکل هلسینکی در سال ۱۹۷۵ که در جلسه کمیته اخلاق پزشکی مورخ ۸۵/۱/۲۸ به تصویب نهایی رسید انجام گرفت.

تهیه و کشت پروبیوتیک

پودر لیوفلیزه لاکتوباسیلوس پاراکازئی سویه TD3 جدا شده از ترخینه از شرکت تک ژن زیست خریداری شد. تعداد باکتری در هر گرم از پودر لیوفلیزه $۱×۱۰^{۹}$ واحد تشکیل دهنده کلونی در گرم بود.

تهیه آفلاتوکسین

قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس با ATCC۱۵۱۱۷ در محیط پتیتو دکستروز آگار در دمای ۲۵ درجه به مدت ۷ روز کشت داده شد. سپس برای استخراج آفلاتوکسین به ازای هر ۲۵ گرم محیط آگار، ۸۰ سی‌سی متانول ۸۰ درصد و ۲/۵ گرم Nacl اضافه کشت و به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط شد تا محیط یکنواختی حاصل گردد، سپس از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد و بعد به منظور برداشتن ناخالصی‌های باقیمانده، مایع صاف شده از ستون افینیتی گذرانده شد و متانول آن از طریق بن ماری ازت‌دار تبخیر گردید و غلظت سم با روش «کروماتوگرافی مایع با کارکرد عالی» (HPLC) تعیین شد. HPLC یعنی کروماتوگرافی مایع با فشار زیاد یا کروماتوگرافی مایع با کارکرد عالی، روشی برای تشخیص و جدا سازی و اندازه‌گیری مواد است. HPLC از دو فاز ثابت و متحرک تشکیل شده است که فاز ثابت جامد و فاز متحرک مایع است. دقت ردیابی آفلاتوکسین در روشHPLC ۱ قسمت در میلیون می‌باشد(۶).

طراحی آزمایش

گروه کنترل مثبت تنها رژیم غذایی پایه را دریافت کردند. گروه کنترل منفی علاوه بر رژیم غذایی پایه روزانه، هفته‌ای دو بار به مدت یک ماه آفلاتوکسین را با دوز ۱۷۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن دریافت کردند. گروه تجربی، علاوه بر رژیم غذایی پایه روزانه، ۱۷۰ میکروگرم آفلاتوکسین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن(۹) و $۱×۱۰^{۹}$ واحد تشکیل دهنده کلونی لاکتوباسیلوس پاراکازئی سویه TD3 را هفته‌ای دوبار به مدت یک ماه دریافت کردند(۱۰).

آزمایشات بیوشیمیایی و نمونه‌برداری

در انتهای آزمایش رت‌ها با اتر بی‌هوش شدند و نمونه خون قلب آن‌ها گرفته شد نمونه‌های خون با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم آنها جدا گردید(۶). سمیت آفلاتوکسین و اثرات حفاظتی لاکتوباسیلوس پاراکازئی در مقابل سمیت آفلاتوکسین، از طریق اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کبدی آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) (۱۱) و آلکالین فسفاتاز (ALP) (۱۲) با استفاده از کیت‌های تشخیصی و با دستگاهBT ۳۰۰۰ بررسی شدند.

آزمایشات بافت‌شناسی

پس از خون‌گیری رت‌ها کشته شدند، کبد آن‌ها خارج گردید و با محلول سرم فیزیولوژی ۹ درصد شسته شدند، سپس در فرمالدئید ۱۰ درصد قرار گرفتند و در پارافین معمولی تعبیه شدند و بلوک‌های پارافینی به ضخامت ۵ میلی‌متر به دست آمدند. سپس بعد از برش با میکروتوم، لام‌ها با رنگ‌های هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند و نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری بررسی گردیدند(۱۳).

تحلیل آماری

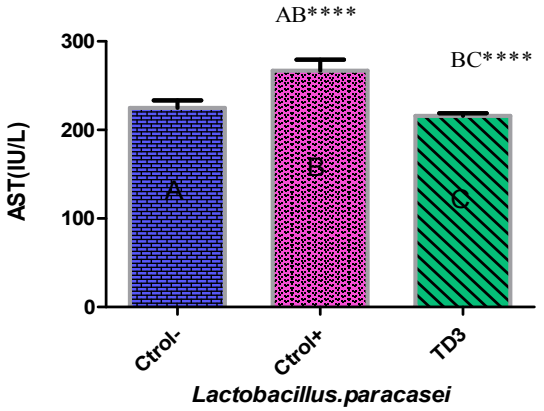
داده‌های به دست آمده در این مطالعه با استفاده از روش تحلیل واریانس یک طرفه، نرم افزار Prism و آزمون اختلاف حقیقی تی تست تحلیل شدند. اختلافات معنی‌دار مطرح شده $p<۰/۰۵$ *، $p<۰/۰۱$ **، $p<۰/۰۰۱$ *** و $p<۰/۰۰۰۱$ **** با گروه کنترل مقایسه شدند. در تمام بررسی‌ها سطح معنی‌داری برابر با $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شدند(۱۴).

یافته‌ها

در گروه‌کنترل مثبت(B)، مقدار آنزیم AST (۲۷۹/۴±۸/۳۲) در روز سی ام در مقایسه با گروه کنترل

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:57 +0430 on Thursday June 21st 2018

منفی(A) (۳/۶۹±۲۱۰/۰) افزایش قابل توجهی یافت و اختلاف آماری معنی‌داری بین این دو (p<۰/۰۵) مشاهده شد. در نتیجه، آفلاتوکسین با دوز مورد نظر، غلظت این آنزیم را در سرم افزایش داد. اما میزان این آنزیم در گروه تجربی دریافت کننده لاکتوباسیلوپاراکازئی(C) سویه TD3 (۳/۳۳± ۲۱۶/۷) نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش چشم‌گیری پیدا کرد(نمودار ۱).

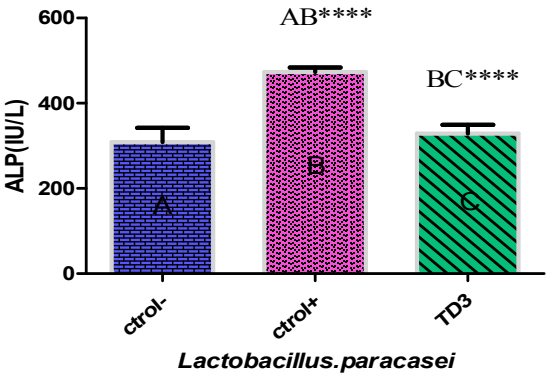


نمودار ۱. اثر تیمار باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازئی بر سطح آنزیم AST سرم در موش‌های صحرائی مسموم شده از طریق آفلاتوکسین. هر ستون، میانگین±انحراف معیار را برای ۸ موش نشان می‌دهد. گروه کنترل منفی، بافر فسفات را به عنوان حلال آفلاتوکسین دریافت کردند. ***p<۰/۰۰۱ ، ****p<۰/۰۰۰۱

میزان آنزیم ALP در گروه کنترل مثبت (۵/۹۰۴±۴۵۸/۶) نسبت به گروه شاهد منفی (۱۵/۶±۳۳۴/۰) افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌دهد، اما در گروه تجربی دریافت کننده سویه TD3 (۱۲/۳۷±۳۳۴/۲) نسبت به گروه کنترل مثبت (۵/۹۰۴±۴۵۸/۶)، کاهش این آنزیم مشهود است(نمودار۲). نتایج اثر آفلاتوکسین وTD3 بر پارامترهای بیوشیمیایی در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. تأثیر پروبیوتیک آزمایشی بر غلظت(IU/L) آنزیم‌های کبدی در سرم رت

گروه‌ها	AST(IU/L)	ALP(IU/L)
کنترل منفی	۳/۶۹±۲۱۰/۰	۰/۳۳۴±۶۸/۱۵
کنترل مثبت	۸/۳۲±۲۷۹/۴	۶/۴۵۸±۹۰۴/۵
تجربی	۷/۲۱۶±۳۳/۳	۲/۳۳۴±۳۷/۱۲
P	۱۷۹۳/۰	۷۰۵۹/۰



نمودار ۲. اثر تیمار باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازئی بر سطح آنزیم ALP سرم در موش‌های صحرائی مسموم شده از طریق آفلاتوکسین. هر ستون، میانگین±انحراف معیار را برای ۸ موش نشان می‌دهد. گروه کنترل منفی، بافر فسفات را به عنوان حلال آفلاتوکسین دریافت کردند. **p<۰/۰۱ ، ****p <۰/۰۰۰۱

نتایج بافت شناسی کبد در گروه کنترل منفی ساختار بافتی طبیعی را همراه با هسته‌های گرد با دیواره و هستک مشخص نشان می‌دهد (شکل ۱، الف). در کبد رت‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین(۰۶۱۵۴/۰±۳/۷۴۱) نسبت به گروه شاهد منفی(۰/۰±۰/۰)، تراکم هسته در واحد سطح بیشتر، هسته‌ها نامنظم و سینوزوئیدها گسترش بیشتری یافتند. هم چنین حفره‌های دژنره شده دیده می‌شود(شکل ۱، ب). در کبد حیوانات دریافت کننده لاکتوباسیلوس پاراکازئی سویه TD3 (۰۴۱۷۴/۰±۹۷۴/۲) اتساع و تراکم سینوزوئیت‌ها به چشم می‌خورد و هسته‌های پلی‌مورفیسم کمتر دیده می‌شود(شکل ۱، ج).

بررسی میکروسکوپی و مطالعه آسیب بافتی در ۱۰ میدان دید انجام شد. در مطالعات بافتی گسترش سینوزوئیدها، تغییر شکل هسته، ناپدید شدن هستک‌ها و تراکم هسته‌ها مشاهده شد و به وجود هر آسیب یک امتیاز داده شد. مجموع امتیازات داده شده به منزله‌ی درجه آسیب هر نمونه از کبد هر حیوان است. نتایج آسیب کبدی به صورت کمی در جدول ۲ ارائه شده است.

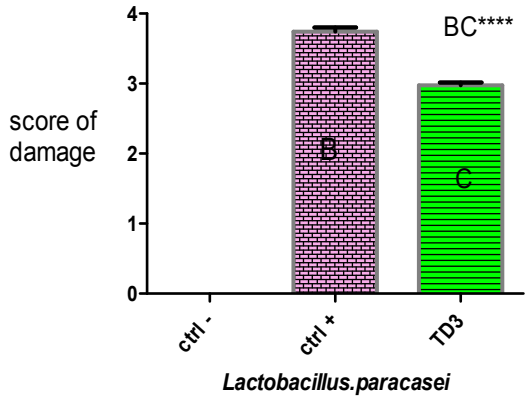
جدول ۲. میانگین داده‌های آسیب کبدی

گروه تجربی	کنترل مثبت	کنترل منفی	
۰/۰۴۱۷۴±۲/۹۷۴	۰/۰۶۱۵۴±۳/۷۴۱	۰/۰±۰/۰	(p) درجه آسیب

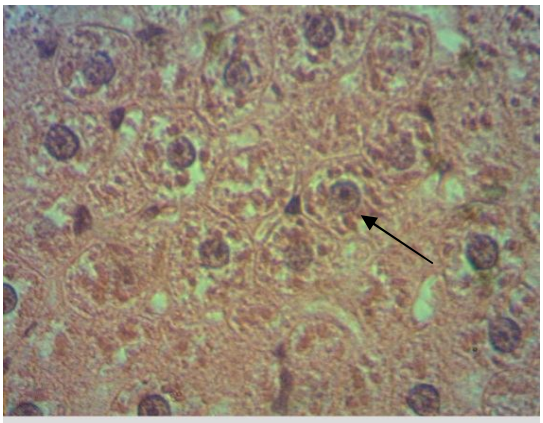
میانگین±انحراف معیار

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:57 +0430 on Thursday June 21st 2018

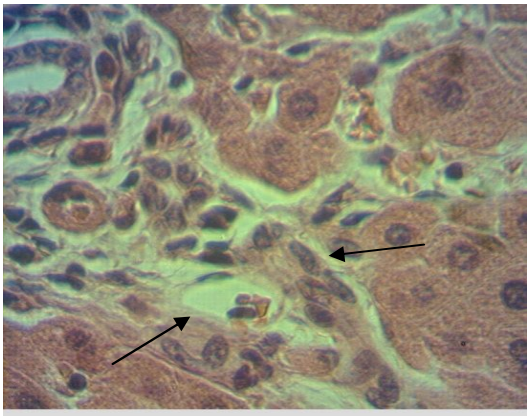
در گروه کنترل مثبت، آسیب بافتی کبد (۳/۷۴۱±۰/۰۶۱۵۴) در مقایسه با گروه کنترل منفی (۰/۰±۰/۰) قابل توجه است و گروه تیمار شده با لاکتوباسیلوس پاراکازئی (۲/۹۷۴±۰/۰۴۱۷۴) نسبت به گروه دریافت کننده آفلاتوکسین، بهبود بافت کبدی را نشان می‌دهد(نمودار ۳).



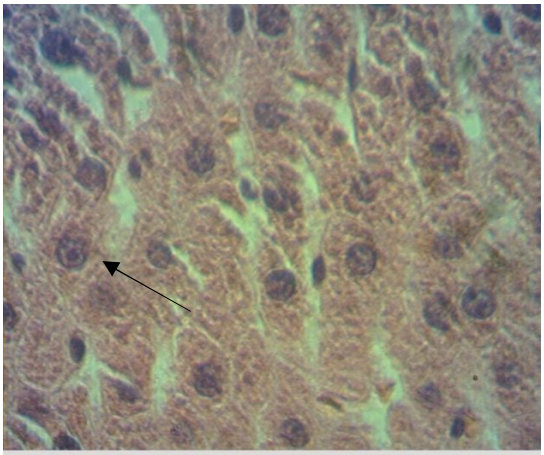
نمودار ۳. اثر تیمار باکتری پروبیوتیک بر آسیب بافتی کبد در موش های صحرائی مسموم شده از طریق آفلاتوکسین. هر ستون، میانگین±انحراف معیار را برای ۸ رت نشان می‌دهد. گروه کنترل منفی، بافر فسفات را به عنوان حلال آفلاتوکسین دریافت کرد. ****p<۰/۰۰۰۱



الف



ب



ج

شکل۱. اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازیی بر آسیب کبدی القاء شده در اثر آفلاتوکسین B1 در رت نر. الف) در گروه کنترل منفی، کبد ساختار بافتی طبیعی با هسته‌های گرد و هستک مشخص دارد. ب) در گروه کنترل مثبت، هسته های نامنظم و بدون هستک و گسترش سینوزوئیدها دیده می‌شود. ج) در گروه دریافت کننده TD3 ، هسته‌های گرد ومنظم و اتساع سینوزوئیدها مشهود است. بزرگ‌نمایی ۱۰۰، رنگ آمیزی H&E (۹).

بحث

کبد، مهم‌ترین عضو هدف برای آفلاتوکسین است. مصرف این سم باعث مسمومیت حاد، آفلاتوکسیکوز و سرطان می‌شود(۱۵). نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار با آفلاتوکسین باعث افزایش چشم‌گیری در عملکرد آنزیم‌های کبدی ALP و AST در سرم می‌شود و هم چنین تغییرات بافتی پاتولوژیکی گسترده‌ای را در سلول‌های کبدی ایجاد می‌کند، به طوری که موجب تغییر شکل هسته‌ها و گسترش سینوزوئیدها می‌گردد. ایجاد نکروز در اطراف سیاهرگ مرکزی بیشتراز سایر نواحی است، زیرا در این

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:57 +0430 on Thursday June 21st 2018

قسمت آنزیم‌های متابولیزه کننده سموم با غلظت بیشتری حضور دارند(۱۶). این تغییرات ممکن است به دلیل واکنش سم با DNA و مهارRNA پلی‌مراز باشند. هم‌چنین سم قادر به القای آسیب اکسیداتیو در سلول‌های کبد رت در شرایط درون تنی و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. کاهش سطح این آنزیم‌ها پس از مصرف پروبیوتیک، احتمالا به علت توانایی آن‌ها در اتصال به آفلاتوکسین، مهار جذب سم، حفاظت در مقابل آسیب غشایی، و DNA است(۱۷).

النظامی و همکاران در سال ۲۰۰۶ در شرایط درون تنی نشان دادند که پروبیوتیک‌های مکمل به طور بیولوژیکی تاثیر آفلاتوکسین را بر بدن کاهش می‌دهند و ممکن است به عنوان یک روش رژیمی موثر برای کاهش خطر سرطان پیشنهاد شوند(۱۸). هم‌چنین گراتز و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که پروبیوتیک‌ها، به خصوص سویه GG ، قادرند تحت شرایط درون تنی در سلول‌های دستگاه گوارش رت به آفلاتوکسین متصل شوند(۱۹).

ترخینه، ماده اصلی در تهیه سوپ سنتی در نواحی کوهستانی غرب ایران است. این ماده متشکل از بلغور گندم خیسانده در دوغ گوسفندی است. بومیان منطقه از ترخینه به دلیل خواص درمانی استفاده می‌کنند. با توجه به مراحل عمل آوری ترخینه و قدمت تولید و مصرف این فرآورده تخمیری به نظر می‌رسد منبع مناسبی از باکتری‌های اسید لاکتیک مفید با خواص پروبیوتیکی باشد. تاج آبادی و همکاران، ۳۴ سویه لاکتوباسیل از ترخینه جدا کرده و خصوصیات پروبیوتیکی آن‌ها را مورد بررسی قرار دادند(۸).

در تحقیقات انجام شده توسط باپتیستا نشان داده شد که تیمار آفلاتوکسین در رت‌های نر نژاد ویستار باعث مسمومیت در کبد شده که این اثر از طریق نشت و از هم گسیختگی غشاء سلولی ونکروز کبدی اعمال می‌شود. او نشان داد مصرف پروبیوتیکی مانند ساکارومایسز سرویسیه باعث بهبود سمیت ناشی از این سم شده و سطح آنزیم‌های کبدی را کاهش می‌دهد(۲۰).

در سال ۲۰۱۱ ، هاتوت و همکاران نقش حفاظتی *Lactobacillus casei* (L1) و *Lactobacillus reuteri* (L2) را در مقابل سمیت ناشی از آفلاتوکسین در رت بررسی کرده و به این نتیجه رسیدند که L1 و L2 سطح آنزیم ALP و UA (اسید اوریک) را نسبت به گروه شاهد مثبت پایین آورده و سویه L2 موثرتر از L1 عمل کرده است. علت این امر احتمالا توانایی اتصال پروبیوتیک‌ها به آفلاتوکسین و هم چنین خصوصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها است(۲۱).

سلیم و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم را در مقابل سمیت ناشی از آفلاتوکسین B1 در شرایط درون تنی بررسی کردند. نتایج نشان داد که آفلاتوکسین باعث افزایش سطح آنزیم‌های AST و ALT در جوجه‌های گوشتی می‌شود و در گروه تغذیه شده با پروبیوتیک همراه با آفلاتوکسین نسبت به گروه کنترل مثبت، کاهش آنزیم‌های مذکور مشاهده می‌گردد. اثر حفاظتی این باکتری‌ها به عنوان یک عامل بالقوه در مقابل سمیت ناشی از آفلاتوکسین ممکن است به دلیل توانایی اتصال پروبیوتیک‌ها به آفلاتوکسین،کاهش جذب آفلاتوکسین و حفاظت در مقابل آسیب‌های غشایی و DNA باشد(۶).

در سال ۲۰۰۸، باپتیستا و همکاران نشان دادند ساکارومایسز سرویسیه قادر به کاهش فعالیت ALT و AST و کاهش آسیب کبدی ناشی ازآفلاتوکسین در رت نژاد ویستار می‌باشد(۲۰).

کومار در سال ۲۰۱۱، اثر لاکتوباسیلوس کازئی سویه شیروتا بر سرطان کبد القاء شده ناشی از آفلاتوکسین B1 در رت را بررسی نمود و نشان داد که در رت‌های تیمار شده با آفلاتوکسین، مجموعه‌ای از تغییرات بافتی مانند گسترش سینوزوئیدها، هسته‌های نامنظم و نکروز دیده می‌شود(۲۲). هم‌چنین، سلیم در تحقیقی مشابه در سال ۲۰۱۱، نقش حفاظتی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را در مقابل سمیت آفلاتوکسین بررسی نمود و نشان داد که پروبیوتیک‌ها احتمالا از طریق توانایی اتصال به آفلاتوکسین باعث مهار جذب و محافظت از آسیب غشایی و DNA می‌شود(۶).

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:57 +0430 on Thursday June 21st 2018

نتیجه‌گیری

یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که آفلاتوکسین باعث آسیب کبدی می‌شود و لاکتوباسیلوس پاراکازئی سویه TD3 جدا شده از ترخینه در ایران در مقابل سمیت ناشی از آفلاتوکسین در شرایط درون تنی نقش حفاظتی خود را اعمال می‌کند. بنابراین به عنوان یک عامل بیولوژیک در حذف آفلاتوکسین مصرف می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله از کلیه‌ی همکاران شرکت تک ژن زیست و گروه زیست شناسی دانشگاه تهران مرکزی که در این پژوهش همکاری نمودند سپاس گزاری می نمایند.

منابع

1. Abou-Bakr S. Effect of some plant extracts on fungal and aflatoxin production. International Journal of Academic Research. 2011; 3(4):772-83.
2. Okuda T, Klich M, Seifert K, Ando K. Media and incubation effects on morphological characteristics of Penicillium and Aspergillus. Integration of modern taxonomic for Penicillium and Aspergillus classification. 2000:83-99.
3. Smith JE, Solomons G, Lewis C, Anderson JG. Role of mycotoxins in human and animal nutrition and health. Natural toxins. 1995; 3(4):187-92.
4. Godfrey S, David K, Lubega A, Jasper O, William W. Review of the biological and health effects of aflatoxins on body organs and body systems. Aflatoxins-Recent Advances and Future Prospects MR Abyaneh (ed) Croatia: Intech. 2013:239-65.
5. Rowland I, Grasso P. Degradation of N-nitrosamines by intestinal bacteria. Applied microbiology. 1975; 29(1):7-12.
6. Salim A-B, Zohair A, Hegazy AE-S, Said A. Effect of some strains of probiotic bacteria against toxicity induced by aflatoxins in vivo. The Journal of American Science. 2011; 7(1):1-12.
7. El-Nezami H, Mykkänen H, Kankaanpää P, Salminen S, Ahokas J. Ability of Lactobacillus and Propionibacterium strains to remove aflatoxin B1 from the chicken duodenum. Journal of Food Protection®. 2000; 63(4):549-52.
8. Tajabadi EM, Bahrami H, Ziyary Z. Tarkhineh source of probiotic lactic acid bacteria. The Quarterly Jornal of Biological Sciences. 2011.
9. Meki A-RM, Abdel-Ghaffar SK, El-Gibaly I. Aflatoxin B1 induces apoptosis in rat liver: protective effect of melatonin. Neuroendocrinology Letters. 2001; 22(6):417-26.
10. Rayes AA. Comparative studies between Gum Arabic recognized as a natural prebiotic and Bfidobacterium as probiotic as potential cure for experimental bacterial infection in mice. 2015.
11. Henry R, Cannon D, Winkelman J. Clinical chemistry principle and techniques. Hager Town, MD: Harper and Rowe. 1974; 822.
12. Belfield A, Goldberg DM. Normal ranges and diagnostic value of serum 5′ nucleotidase and alkaline phosphatase activities in infancy. Archives of disease in childhood. 1971; 46(250):842-6.
13. Reid P, Culling C, Dunn W, Ramey C, Clay M. Chemical and histochemical studies of normal and diseased human gastrointestinal tract. I. A comparison between histologically normal colon, colonic tumours, ulcerative colitis and diverticular disease of the colon. The Histochemical Journal. 1984; 16(3):235-51.
14. Waller RA, Duncan DB. A Bayes rule for the symmetric multiple comparisons problem II. Annals of the Institute of Statistical Mathematics. 1974; 26(1):247-64.
15. Neal G. Genetic implications in the metabolism and toxicity of mycotoxins. Toxicology letters. 1995; 82:861-7.
16. Sherlock S, Dooley J. Drugs and the liver. Sherlock, E Diseases of the Liver and Biliary System. 2002; 7: 304-33.
17. Clifford JI, Rees K, Stevens MEM. The effect of the aflatoxins B 1, G 1 and G 2 on protein and nucleic acid synthesis in rat liver. Biochem J. 1967; 103: 258-61.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:57 +0430 on Thursday June 21st 2018

18. El-Nezami HS, Polychronaki NN, Ma J, Zhu H, Ling W, Salminen EK, et al. Probiotic supplementation reduces a biomarker for increased risk of liver cancer in young men from Southern China. The American journal of clinical nutrition. 2006; 83(5):1199-203.
19. Gratz S, Täubel M, Juvonen R, Viluksela M, Turner P, Mykkänen H, et al. Lactobacillus rhamnosus strain GG modulates intestinal absorption, fecal excretion, and toxicity of aflatoxin B1 in rats. Applied and environmental microbiology. 2006; 72(11):7398-400.
20. Baptista A, Abdalla A, Aguiar C, Baptista AAS, Micheluchi D, Zampronio A, et al. Utilization of diets amended with yeast and amino acids for the control of aflatoxicosis. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2008; 24(11):2547-54.
21. Hathout AS, Mohamed SR, El-Nekeety AA, Hassan NS, Aly SE, Abdel-Wahhab MA. Ability of Lactobacillus casei and Lactobacillus reuteri to protect against oxidative stress in rats fed aflatoxins-contaminated diet. Toxicon. 2011; 58(2):179-86.
22. Kumar M, Verma V, Nagpal R, Kumar A, Behare P, Singh B, et al. Anticarcinogenic effect of probiotic fermented milk and chlorophyllin on aflatoxin-B 1-induced liver carcinogenesis in rats. British Journal of Nutrition. 2012; 107(07):1006-16.