

The effect of Iranian native *Lactobacillus pentosus* on healing of gastric ulcers in male Wistar rats

Mousavi F¹, Rahnema M², Heydarieh N(PhD)^{1*}, Tajabadi Ebrahimi M³

1- Department of Physiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran

2- Biology Research Center, Islamic Azad University, Zanjan Branch, Zanjan, Iran

3- Department of Microbiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 18 Sep 2012, Accepted: 6 Feb 2013

Abstract

Background: Gastric ulcer treatment with chemical drugs is associated with a multitude of side effect. One of the most important groups of probiotics is lactic acid bacteria. The aim of this study was to investigate the healing effects of *Lactobacillus pentosus* on gastric ulcer induced by acetic acid.

Materials and Methods: In this experimental study, 45 male Wistar rats were divided into experimental, control 1, and control 2 groups. After one day of fasting, the rats were operated and gastric ulcer was induced by acetic acid. One day after surgery, the groups were treated with the 10¹⁰ cfu/day bacteria, dissolved in one ml of milk sterilizer, 1 ml of milk sterilizer, and 1 ml of normal saline, respectively, via gavage. On days 1, 4, 7, 10, and 14 after the induction of gastric ulcer, the animals were killed and the wound size (mm²) and the effect of the bacteria on the healing of wounds were measured for each rat.

Results: The treatment with *Lactobacillus pentosus* strains significantly decreased wound size in the experimental group compared with control groups. Significant increases in the number of neutrophils, macrophages, fibroblasts, significant decreases in the number of neutrophils, macrophages, and increased numbers of fibroblasts were observed in the experimental group compared to the control groups. Also, significant reductions in the number of neutrophils, macrophages, and fibroblasts were seen in the experimental group compared with the other two groups..

Conclusion: *Lactobacillus pentosus* has healing effects on gastric ulcer induced by acetic acid..

Keywords: Healing, *Lactobacillus pentosus*, probiotic, stomach ulcers

*Corresponding author:

Address: Biology Research Center, Islamic Azad University, Zanjan Branch, Zanjan, Iran

Email: Meh_rahnema@yahoo.com

اثر ترمیمی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پنتوسوس بومی ایران بر ترمیم زخم معده ناشی از اسید استیک در موش صحرایی نر نژاد ویستار

سیده فاطمه موسوی¹، مهدی رهنما^{2*}، نسرین حیدریه¹، مریم تاج آبادی ابراهیمی³

- 1- دانشجو، گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران
- 2- دانشیار، مرکز تحقیقات بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، زنجان، ایران
- 3- دانشجو، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 91/6/28 تاریخ پذیرش: 91/11/18

چکیده

زمینه و هدف: درمان زخم معده با داروهای شیمیایی عوارض جانبی زیادی دارد. باکتری‌های اسید لاکتیک از گروه‌های اصلی پروبیوتیک‌ها هستند. هدف این مطالعه، بررسی اثر ترمیمی لاکتو باسیلوس پنتوسوس بر ترمیم زخم معده حاصل از اسید استیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از 45 موش نر نژاد ویستار که به سه گروه تجربی، کنترل 1 و کنترل 2 تقسیم شده استفاده گردید. موش‌ها پس از یک روز گرسنگی، تحت عمل جراحی قرار گرفته و زخم معده توسط اسید استیک ایجاد شد. روز بعد از جراحی گروه‌های تجربی به ترتیب با 10^{10} کلونی باکتری به صورت محلول در یک میلی‌لیتر شیر استریلیزه در هر روز، یک میلی‌لیتر شیر استریلیزه و یک میلی‌لیتر نرمال سالین، از طریق گاواژ، تا زمان تشریح تیمار شدند. موش‌ها را در روزهای 1، 4، 7، 10 و 14 پس از ایجاد زخم معده کشته و ابعاد زخم محاسبه و سپس میزان اثر باکتری بر ترمیم زخم معده در هر موش تعیین گردید.

یافته‌ها: تیمار سویه لاکتو باسیلوس پنتوسوس موجب کاهش معنی‌دار ابعاد زخم بین گروه‌های تجربی و شاهد شد. افزایش معنی‌دار در تعداد نوتروفیل، ماکروفاژ، فیبروبلاست و کاهش معنی‌دار تعداد نوتروفیل، ماکروفاژ و افزایش تعداد فیبروبلاست در گروه تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و کاهش معنی‌دار تعداد نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها در گروه تجربی مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: لاکتو باسیلوس پنتوسوس دارای اثر ترمیمی بر زخم معده ناشی از اسید استیک می‌باشد.

واژگان کلیدی: ترمیم، لاکتو باسیلوس پنتوسوس، پروبیوتیک، زخم معده

* نویسنده مسئول: زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، مرکز تحقیقات بیولوژی

مقدمه

دیدگاه تنوع عملکرد میکروارگانیسم‌های روده‌ای انسان، توسط مطالعات بالینی با باکتری‌هایی که عملکردهای ویژه‌ای دارند و آنهایی که به عنوان پروبیوتیک‌ها، اثر مثبت بر سلامتی دارند به دست آمده است. تلاش‌های آغازین در حمایت علمی دقیق بر سودمندی باکتری‌های پروبیوتیک بنا نهاده شده بود که به طور خاص شامل گونه‌های لاکتوباسیلوس (*Lactobacillus*) و بیفیدوباکتریوم (*Bifidobacterium*) می‌شود (1). پروبیوتیک‌ها، کشت میکروارگانیسم‌های مفیدی هستند که اگر به تعداد کافی مصرف شوند به حفظ تعادل جمعیت بومی روده و سلامتی میزبان اثرات مطلوبی می‌گذارند (2). زندگی مدرن ذخایر طبیعی باکتری‌ها را در درون دستگاه گوارش کم کرده است. بعد از سال‌های متمادی که تنوع غذایی و برخورد با مواد شیمیایی موجود در غذاها افزایش یافته و نیز استفاده از انواع آنتی‌بیوتیک‌ها و سایر داروها، تعجب آور نیست که نوع و مقدار فلور طبیعی بدنمان تغییر کند (3). فاکتورهایی که تاثیرات منفی روی میان کنش میکروارگانیسم‌های روده‌ای با یکدیگر دارند نظیر استرس و رژیم غذایی منجر به تاثیرات مضر بر روی سلامتی خواهند بود (4). هم‌چنین استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان و پیش‌گیری از برخی باکتری‌ها نه تنها باعث ایجاد مقاومت دارویی در آنها می‌شود، بلکه موجب به هم خوردن فلور نرمال مفید دستگاه گوارشی شده و بدن را مستعد به انواع بیماری‌های روده‌ای از قبیل اسهال می‌نماید. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که تاثیرات مفیدی مانند بهبود سیستم ایمنی، جلوگیری از استقرار و رشد باکتری‌های بیماری‌زا، کاهش جذب کلسترول و کاهش احتمال ابتلا به سرطان کولون را دارند (5). استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌هایی که در محیط زنده با عوامل میکربی پاتوژن مقابله می‌کنند از طریق خوراکی فرد را در برابر عوامل بیماری‌زا مصون کرده (6) و می‌توانند به حفظ تعادل میکروبی و در نتیجه به روش‌های درمانی مختلف کمک کنند (4). یکی از مهم‌ترین گروه‌های باکتری‌های پروبیوتیک

باکتری‌های لاکتیک اسید هستند که عمل آنها وابسته به گونه و سویه خاص می‌باشد و بستگی به میزان کافی باکتری حاضر در روده‌ها دارد. با این حال پیچیدگی در شناسایی و طبقه‌بندی سویه‌ها، به دلیل آن که منافع فقط ممکن است متعلق به سویه خاص باشد، تحقیقات را مشکل کرده است (7). پروبیوتیک‌ها در غذاها و مکمل‌های غذایی به صورت کپسول‌ها، قرص‌ها، پودر و سایر شکل‌ها موجود هستند. مثال‌هایی از غذاهای حاوی پروبیوتیک ماست تخمیری، شیر غیر تخمیری، Tempeh، Miso، بعضی از شربت‌ها و مشروبات سبوسی می‌باشد. در غذاها و مکمل‌های پروبیوتیکی، باکتری‌ها ممکن است در آغاز کار وجود داشته باشند و یا طی آماده‌سازی اضافه شوند (8، 9). اثرات پروبیوتیکی نسبت داده شده به باکتری‌های لاکتیک اسید و محصولات لبنی تخمیر شده نه تنها از تمام میکروارگانیسم‌ها و اجزای دیواره سلولی شان حاصل می‌شود، بلکه از متابولیت‌ها از قبیل پپتیدها و پلی ساکاریدهای خارج سلولی تولید شده در زمان تخمیر نیز ناشی می‌گردد (10). تعیین توانایی تولید اگزوپلی ساکارید (Exopolysaccharide- EPS) توسط هر سویه پروبیوتیک دارای اهمیت است، زیرا اگزوپلی ساکارید اتصال میکروارگانیسم به دیواره روده را سبب می‌شود (11). اگزوپلی ساکارید تولید شده توسط این میکروارگانیسم‌ها خواص محرک سلامتی از قبیل تحریک ایمنی (12)، فعالیت ضد زخم‌های گوارشی (13) و کاهش کلسترول (14) دارند. هم‌چنین این اگزوپلی ساکارید عموماً ضامن سلامتی شناخته می‌شود (15). پروبیوتیک‌ها ابتدا به وسیله پدر ایمونولوژی مدرن (Elic metchinkoff) در اوایل قرن بیستم مطرح شد (16) او ادعا کرد که خوردن ماست حاوی لاکتوباسیلوس موجب کاهش سم تولید شده به وسیله باکتری‌های مضر در روده می‌شود و باعث افزایش طول عمر میزبان می‌گردد (17). در یک بررسی آزمایشگاهی در سال 2007، امیلی و همکاران برای اولین بار دریافتند که پروبیوتیک *Lactobacillus rhammosus GG* قادر به تسریع ترمیم زخم معده است. این سویه بر عملکرد فیزیولوژیک غشای

پس از تعیین کینیتیک رشد باکتری، لاکتوباسیل پنتوسوس در محیط Lactobacilli MRS broth برای 48 ساعت در 37 درجه سانتی‌گراد و در غلظت 5 درصد دی‌اکسید کربن رشد داده شد تا فاز ثابت به دست آمده و با دستگاه اسپکروفوتومتر جذب نوری آن اندازه‌گیری شد تا میزان باکتری مورد نظر به دست آید. سپس باکتری‌ها با دور 4000 برای 20 دقیقه سانتریفوژ و از محیط کشت جدا و دو بار به وسیله بافر فسفات استریل شده (در pH های 4 و 7) شستشو داده شده و در شیر استریل‌زده، معلق گردیدند. ماده تلقیح برای گروه تجربی شامل 10^{10} باکتری در هر میلی‌لیتر شیر استریل‌زده تعیین گردید.

جهت ایجاد زخم معده، قبل از جراحی رت‌ها برای 24 ساعت از غذا محروم شدند، اما به طور آزاد به آب دسترسی داشتند. پس از بی‌هوشی (کتامین+زایلازین) موش‌ها و ایجاد برش کوچکی در شکم و خروج معده، دو سر معده مسدود و 0/12 میلی‌لیتر محلول اسید استیک 60 درصد به ناحیه تنه معده تزریق گردید. بعد از 45 ثانیه اسید خارج و معده توسط نرمال سالین شستشو و به جای اولیه باز گردانده شد. پس از آن رت‌ها در قفس‌های انفرادی قرار گرفته و با یک رژیم غذایی استاندارد آزمایشگاهی و آب معمولی تغذیه شدند (21).

روش سنجش بهبودی زخم

اندازه‌گیری زخم در روز اول که به عنوان مرجع استفاده شد یک روز پس از ایجاد زخم معده صورت گرفت. روز انجام جراحی و ایجاد زخم معده روز صفر در نظر گرفته شد. میانگین مساحت زخم در روز اول 552 میلی‌متر مربع بود. درصد بهبود با استفاده از فرمول زیر در نظر گرفته شد.

$$100 \times \text{اندازه زخم در روز X} - \text{اندازه زخم در روز اول} = \text{درصد بهبود زخم}$$

اندازه‌گیری ناحیه زخم گوارشی

اندازه زخم (میلی‌متر) در دیواره قدامی و خلفی معده موش‌ها در روزهای ذکر شده اندازه‌گیری و معده برای تثبیت در داخل فرمالین 10 درصد قرار گرفته شد. پس از

مخاطی معده طبیعی اثر ندارد، اما بر روی معده‌هایی که در آنها زخم ایجاد شده اثر داشته و به ترمیم آنها کمک می‌کند (19) در همان سال گزارش شد که لبنیات دارای باکتری پروبیوتیک از جمله *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium lactis* فعالیت قابل توجهی بر ترمیم زخم‌های گوارشی در مدل‌هایی که این زخم‌ها بر اثر استرس، اتانول و ایوپروفن به وجود آمده بودند، دارند (20). علی‌رغم تاثیرات مثبت این باکتری‌ها، مطالعه نقش پروبیوتیک‌ها و تاثیرات سویه خاص به خصوص سویه‌های بومی ایران بر ترمیم زخم‌های گوارشی‌های به طور کامل و گسترده بررسی نشده است. هم‌چنین مصرف الکل، سیگار، شیوه زندگی و غیره باعث افزایش این بیماری شده و استفاده از داروهای شیمیایی در درمان زخم‌های گوارشی همراه با عوارض جانبی است. بنابراین یافتن راه حل درمانی جدید که اثر درمانی بیشتری و عوارض جانبی کمتری داشته باشد چالش مهم در علم پزشکی محسوب می‌شود. با توجه به کاربرد مهم باکتری‌های پروبیوتیک در دستگاه گوارشی، مطالعه حاضر جهت بررسی اثر باکتری لاکتوباسیلوس پنتوسوس جدا شده از فرآورده‌های لبنی ایران بر ترمیم زخم معده طراحی شده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع تجربی بوده و هدف از آن بررسی اثر باکتری لاکتوباسیلوس پنتوسوس جدا شده از محصولات لبنی سنتی ایران بر ترمیم زخم معده ناشی از اسید استیک با توجه به شاخص بهبود زخم، تراکم فیروبلاست‌ها، نوتروفیل، ماکروفاژ و گلبول سفید در واحد سطح می‌باشد.

در این مطالعه 45 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (250 ± 20 گرم) از دانشگاه شهید بهشتی تهیه شد و به 3 گروه 3 تایی تجربی (تیمار با 10^{10} باکتری محلول در شیر)، کنترل 1 (تیمار با شیر استریل‌زده)، کنترل 2 (تیمار با نرمال سالین) تقسیم و در روزهای 1، 4، 7، 10 و 14 پس از ایجاد زخم معده با اسید استیک مورد بررسی قرار گرفتند.

مقدار این افزایش در گروه تجربی نسبت به سایر گروه بیشتر می‌باشد (جدول 1 و شکل 1).

جدول 1. اثرات تیمارهای مختلف بر روی میانگین و انحراف از معیار درصد بهبودی زخم معده در گروه‌های تیماری ($p < 0/05$)

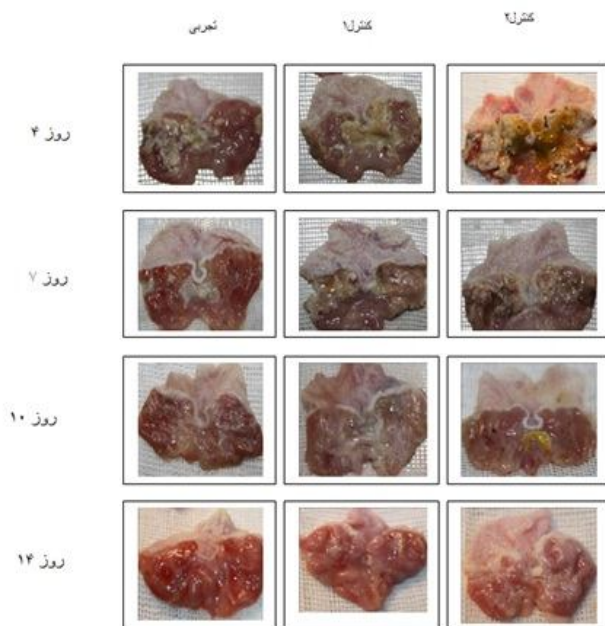
| روز | گروه | درصد بهبودی زخم معده |
|-----|---------|----------------------|
| 4 | کنترل 2 | 30/71 ± 3/75 |
| | کنترل 1 | 41/90 ± 3/60 |
| | تجربی | 68/7 ± 7/37 |
| | کنترل 2 | 58/04 ± 8/83 |
| 7 | کنترل 1 | 73/45 ± 3/84 |
| | تجربی | 84/96 ± 4/37 |
| | کنترل 2 | 73/33 ± 9/13 |
| | کنترل 1 | 83/04 ± 5/48 |
| 10 | تجربی | 95/03 ± 3/92 |
| | کنترل 2 | 87/66 ± 5/487 |
| | کنترل 1 | 92/57 ± 6/385 |
| | تجربی | 99/16 ± 0/201 |

پاساژ و تهیه برش بافتی با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی و با استفاده از عدسی چشمی مدرج خط کش دار مقاطع بافتی از نظر تعداد فیروبلاست، نوتروفیل، ماکروفاژ و گلبول سفید در واحد سطح بررسی شدند.

در پایان اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 17 و آنالیز واریانس یک طرفه (Ony way Anova)، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. معیار استنتاج آماری $p < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

درصد بهبود زخم معده با افزایش طول دوره درمان در هر 3 گروه افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد و



شکل 1. اثر تیمارهای مختلف بر روی ترمیم زخم معده در گروه‌های کنترل و تجربی در روزهای مختلف تیمار

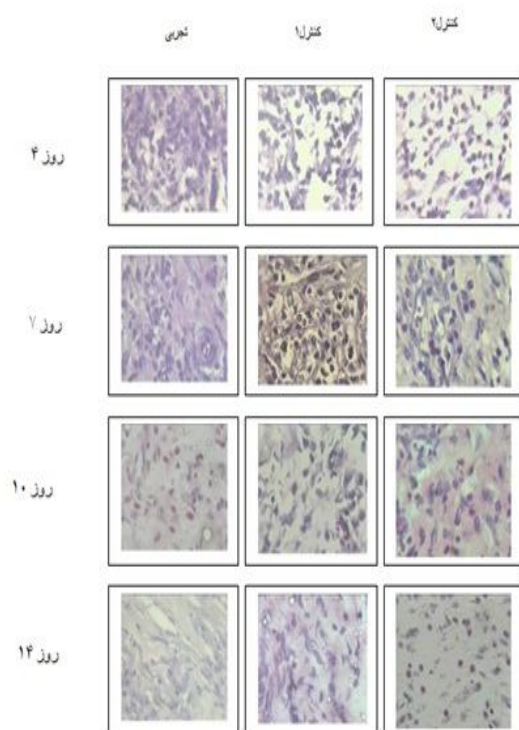
فیروبلاست در گروه تجربی نسبت به گروه‌های کنترل در روز هفتم و کاهش معنی‌دار تعداد نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و فیروبلاست‌ها در گروه تجربی نسبت به دو گروه دیگر در

در بررسی بافت‌شناسی افزایش معنی‌دار در تعداد نوتروفیل، ماکروفاژ، فیروبلاست در روز چهارم و کاهش معنی‌دار تعداد نوتروفیل، ماکروفاژ و افزایش تعداد

روز دهم و روز چهاردهم مشاهده گردید (شکل 2 و جدول 2).

جدول 2. اثرات تیمارهای مختلف بر روی میانگین و انحراف از معیار تعداد سلولهای ایمنی در گروههای تیماری ($p < 0/05$)

| روز | گروه | نوتروفیل | ماکروفاژ | فیبروبلاست |
|-----|---------|--------------|--------------|--------------|
| 4 | کنترل 2 | 15/30±0/931 | 15/10±1/184 | 8/533±0/515 |
| | کنترل 1 | 3/66±1/586 | 22/93±1/987 | 14/766±0/830 |
| | تجربی | 53/16±2/147 | 38/966±2/052 | 20/766±1/425 |
| 7 | کنترل 2 | 27/13±1/431 | 40/60±3/334 | 12/70±801 |
| | کنترل 1 | 19/13±1/035 | 28/766±2/868 | 17/466±0/860 |
| | تجربی | 14/100±0/752 | 14/63±0/603 | 21/33±1/240 |
| 10 | کنترل 2 | 16/73±0/715 | 25/36±1/780 | 15/73±0/979 |
| | کنترل 1 | 13/33±0/664 | 18/50±1/06 | 11/43±0/590 |
| | تجربی | 9/73±0/565 | 9/33±0/557 | 9/50±0/506 |
| 14 | کنترل 2 | 10/50±0/620 | 15/83±0/954 | 16/43±1/101 |
| | کنترل 1 | 5/6±0/811 | 8/63±0/597 | 8/70±0/619 |
| | تجربی | 3/366±0/468 | 4/90±0/465 | 4/40±0/466 |



شکل 2. نمای ریز بینی شاخص های بافت شناسی در گروه های کنترل و تجربی در روزهای مختلف تیمار

بحث

معدۀ می‌توان به کاهش نسبت مرگ سلولی به تکثیر سلولی (27، 28) و افزایش رگ زایی (29، 30) در غشای مخاطی معدۀ اشاره کرد. سویه‌های پروبیوتیک، فاکتورهای قابل حل تولید می‌کنند که فعالیت شبیه کموتریپسین پروتئوزوم در سلول‌های اپی تلیالی روده‌ای را مهار می‌کند، بنا بر این مسیر NF-Kb و بیان پروتئین شوک گرمایی سایتوپروتکتیو را مهار می‌کنند. این باکتری‌ها قادر به ترمیم اپی تلیالی یا ممانعت از مرگ سلولی هستند. آنها AK/Protein Kinase B ضد آپوپتوزی فعال، و مهار فعال سازی P38/mitogen-activated protein kinase پیش آپوپتوزی توسط TNF- α ، IL-1 α یا IFN γ را دارند. مهار مرگ سلولی ممکن است بقاء سلول‌های گوارشی را تسهیل و تکثیر در حین احیاء جراحی اپی تلیالی را ارتقاء بخشند، پروبیوتیک‌ها می‌توانند استحکام و ثبات سلولی را توسط عملکرد سد روده‌ای در طی تعدیل فسفوریلاسیون پروتئین‌های سیتواسکلتون و اتصال محکم تحت تاثیر قرار دهند. مکانیزمی که باکتری‌های پروبیوتیک عملکرد سد مخاطی روده را تسهیل می‌کنند مشخص نیست اما ممکن است وابسته به تغییر در مخاط یا ترشح کلرید یا تغییر در بیان پروتئین اتصالات محکم توسط سلول‌های اپیتلیالی باشد (31). در فرآیند افزایش رگ‌زایی و کاهش نسبت مرگ به تکثیر سلولی، فاکتورهای رشد از قبیل افزایش بیان پروتئین اورنیتین دکربوکسیلاز (32، 33) و Bcl-2 (34)، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (16، 22، 35، 36) نقش دارند. در یک بررسی این نتیجه حاصل شد که با تیمار پروبیوتیک میزان ترمیم زخم‌های گوارشی ایجاد شده در اثر استرس که توسط فاکتور رشد اپیدرمی و پروستاگلاندین E2 صورت می‌گیرد به سبب کاهش آپوپتوزیس توسط تنظیم دقیق Bcl-2 در مخاط معدی افزایش می‌یابد (37). در پژوهش حاضر با تزریق اسید استیک سلول‌های بافت مخاط و زیر مخاطی از بین رفته و با تیمار باکتری در گروه تجربی ترمیم بافت افزایش زمانی یافته است. در این بررسی هجوم و فعال شدن ماکروفاژها، افزایش فیبروبلاست‌ها در روزهای اولیه، سپس کاهش التهاب و

مطالعات انجام گرفته بر روی باکتری‌های پروبیوتیک حاکی از آن است که شیر حاوی *plantarum Lactobacillus*، فعالیت ترمیمی بالایی نسبت به زخم معدۀ حاد ناشی از اسید استیک در موش‌های صحرایی دارد (22). هم‌چنین بررسی انجام گرفته بر روی باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus gasseri* نیز حاکی از آن است که این باکتری فعالیت محافظتی بر ضد زخم معدۀ حاد ناشی از اسید استیک در موش‌های صحرایی دارد (23). غنی سازی با سویه‌های *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium adolescentis* مانع از تشکیل زخم‌های روده شده است (23، 24). یافته‌های به دست آمده از *Lactobacillus casei* حاکی از این است که این باکتری می‌تواند درمان جایگزین در درمان زخم معدۀ باشد. در مطالعه حاضر نشان داده شده که *pentosus Lactobacillus* جدا شده از فرآورده‌های لبنی سنتی ایران قادر به تسریع ترمیم زخم معدۀ می‌باشد. تلقیح خوراکی *pentosus Lactobacillus* به مقدار 10^{10} باکتری در میلی‌لیتر برای چهار روز متوالی اندازه زخم معدۀ را تا 76 درصد کاهش داد. روند بهبود ناشی از مصرف ادامه دار این پروبیوتیک در روز چهاردهم پیشنهاد می‌کند که اثر *pentosus Lactobacillus* محدود به فاز اول نمی‌باشد، بلکه تا مراحل ترمیم کامل ادامه دار است. در این مطالعه چند فاکتور کلیدی که نشان دهنده فاز ترمیم می‌باشند، بررسی شدند. بررسی مطالعات بافت شناسی در روزهای مختلف به خصوص در روز چهار نشان دهنده کاهش معنی‌دار میزان نوتروفیل‌ها در واحد سطح و افزایش ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها بود. هم‌چنین در روز چهاردهم در میزان نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و فیبروبلاست کاهش معنی‌دار مشاهده شد. نکته قابل توجه مکانیزم‌هایی است که به واسطه آن، این اثرات اعمال می‌شود. سویه‌های زنده پروبیوتیک مقاومت سلول‌های اپیتلیالی را افزایش می‌دهند. هم‌چنین متابولیت‌های پروبیوتیک‌ها رگ زایی را القاء می‌کنند و باعث انباشت پروتئوگلیکان‌ها می‌شوند و زخم را ترمیم می‌کنند (25، 26). از مکانیزم‌های مهم و دخیل در ترمیم زخم

هم چنین با توجه به این که این سویه بومی ایران می باشد با فلور روده ای مردم ایران سازگار بوده و با توجه به تولید بالای آگزوپلی ساکارید، می تواند سویه ای مفید محسوب شود. امید است نتایج این بررسی و تحقیقات بیشتر در زمینه اهمیت و نقش پروبیوتیک های بومی ایران بتواند در آینده در درمان بیماری ها به خصوص بیماری های گوارشی، موثر واقع شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مرکز تحقیقات بیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان و نیز کلیه کسانی که ما را در این تحقیق یاری نمودند، تقدیر و تشکر می شود.

منابع

1. Saxelin M, Tynkkynen S, Mattila-Sandholm T, de Vos WM. Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. Current opinion in biotechnology. 2005;16(2):204-11.
2. Durlu-Özkaya F, Aslim B, Taha Ozkaya M. Effect of exopolysaccharides (EPSs) produced by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. LWT-Food Science and Technology. 2007;40(3):564-8.
3. Kruis W. Antibiotics and probiotics in inflammatory bowel disease. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2004;20(s4):75-8.
4. Lourens-Hattingh A, Viljoen BC. Yogurt as probiotic carrier food. International Dairy Journal. 2001;11(1):1-17.
5. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, Schillinger U. Overview of gut flora and probiotics. International journal of food microbiology. 1998;41(2):85-101.
6. Fazeli A, Ghasemian H, Mirnejad R. Enterotoxigenic *E. coli* colonization get down (*Lactobacillus casei*) in mice. 1th ed: shahrekord University of Medical Sciences; 2009.p.26-33.[Persian]
7. Asp N-G, Möllby R, Norin L, Wadström T. Probiotics in gastric and intestinal disorders as

افزایش سنتز کلاژن در روز چهاردهم مشاهده گردید که نشان دهنده تحریک سیستم ایمنی نیز می باشد. افزایش درصد بهبود زخم معده با توجه به فاکتورهای بیان شده حاکی از تاثیر مثبت این سویه در تسریع و تسهیل ترمیم زخم معده می باشد. هم چنین افزایش درصد بهبود در گروه کنترل 1 نسبت به گروه کنترل 2 مشهود می باشد. به علت وجود محصولات پروبیوتیکی، ویتامین ها، پروتئین ها مخصوصاً وجود کلسیم در شیر باعث خنثی شدن اسید معده شده و درصد بهبودی در گروه کنترل 1 نسبت به گروه کنترل 2 افزایش یافته است، اما زمانی که لاکتوباسیلوس پنتوسوس به شیر افزوده شد، این روند با سرعت بیشتری و اختلاف معنی دار بین دو گروه دیگر خود را نشان داد. نتایج حاصل پیشنهاد می کند که غنی سازی با سویه لاکتوباسیلوس کازئی می تواند در تسریع ترمیم و ممانعت از تبدیل زخم معده حاد به مزمن و سرطان معده مفید باشد. امروزه محصولات لبنی غنی شده با باکتری های پروبیوتیک به یکی از موفق ترین اقلام صنایع غذایی تبدیل شده است. روزانه میزان زیادی از این محصولات پروبیوتیک از قبیل ماست ها و نوشیدنی های پروبیوتیک در اکثر نقاط دنیا تولید می شود (22). اگر چه میزان و سویه این باکتری ها در محصولات شرکت های تولید کننده گوناگون متفاوت می باشد، اما در بسیاری از این محصولات از تعدادی سویه های مشخص استفاده می شود که دارای خواص سودمند بیشتری نسبت به دیگر سویه ها می باشند. این سویه ها عبارتند از: *Lactobacillus casei* ، *Lactobacillus johnsonii plantarum* ، *Lactobacillus rhamnosus* که همگی دارای منشاء انسانی بوده و با نام تجاری خاص خود در بازار شناخته می شوند (38-11).

نتیجه گیری

در مجموع در این بررسی نشان داده شد که لاکتوباسیلوس پنتوسوس جدا شده از فرآورده های لبنی ایران قابلیت تسریع و تسهیل ترمیم زخم معده را دارا است.

- functional food and medicine. Food & Nutrition Research. 2004;48(1):15-25.
8. Oyetayo V, Oyetayo F. Review-Potential of probiotics as biotherapeutic agents targeting the innate immune system. 2005.p.123-7.
 9. nccam.nih.gov [homepage on the internet]. National Center for Complementary and Alternative Medicine. An Interoduction to probiotics.2007. Available from: <http://www.nccam.nih.gov/>.
 10. Vinderola G, Perdigon G, Duarte J, Farnworth E, Matar C. Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefirianofaciens* on the gut mucosal immunity. Cytokine. 2006;36(5):254-60.
 11. Schiraldi C, Valli V, Molinaro A, Carteni M, De Rosa M. Exopolysaccharides production in *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus casei* exploiting microfiltration. Journal of industrial microbiology & biotechnology. 2006;33(5):384-90.
 12. Chabot S, Yu H-L, De Léséleuc L, Cloutier D, Van Calsteren M-R, Lessard M, et al. Exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M stimulate TNF, IL-6 and IL-12 in human and mouse cultured immunocompetent cells, and IFN- γ in mouse splenocytes. Le Lait. 2001;81(6):683-97.
 13. Nagaoka M, Hashimoto S, Watanabe T, Yokokura T, Mori Y. Anti-ulcer effects of lactic acid bacteria and their cell wall polysaccharides. Biological & pharmaceutical bulletin. 1994;17(8):1012-7.
 14. Nakajima H, Suzuki Y, HIROTA T. Cholesterol lowering activity of ropy fermented milk. Journal of food science. 2006;57(6):1327-9.
 15. Desai K, Akolkar S, Badhe Y, Tambe S, Lele S. Optimization of fermentation media for exopolysaccharide production from *Lactobacillus plantarum* using artificial intelligence-based techniques. Process Biochemistry. 2006;41(8):1842-8.
 16. Caramia G. Probiotics: from Metchnikoff to the current preventive and therapeutic possibilities. La Pediatria medica e chirurgica: Medical and surgical pediatrics. 2004;26(1):19-33.
 17. Fuller R. Probiotics in man and animals. The Journal of applied bacteriology. 1989;66(5):365-78.
 18. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers P, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical chemistry. 1956;28(3):350-6.
 19. Lam EK, Tai EK, Koo MW, Wong HP, Wu WK, Yu L, et al. Enhancement of gastric mucosal integrity by *Lactobacillus rhamnosus* GG. Life sciences. 2007;80(23):2128-36.
 20. Neelima M, Sujatha D, Bharathi K, Kumar A, Prasad K. Evaluation of a probiotic dairy product for antiulcer activity in rats. Int J Probio & Prebio. 2007;2(2/3):37-40.
 21. Ma L, Chow JYC, Cho CH. Cigarette smoking delays ulcer healing: role of constitutive nitric oxide synthase in rat stomach. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. 1999;276(1):G238-G48.
 22. Abotalebi H, Nasrabadi M, Tajabadi M, Shabani M, Zahedi F. Restorative effect *lactobacillus plantarum* isolated from traditional cheese of Iran on gastric ulcer induced by acetic acid in rats. Journal of Iran University of Medical Sciences. 2010;(17)77: 7-16.[Persian]
 23. Uchida M, Kurakazu K. Yogurt containing *Lactobacillus gasseri* OLL2716 exerts gastroprotective action agaisnt acute gastric lesion and antral ulcer in rats. Journal of pharmacological sciences. 2004;96(1):84-90.
 24. Hagiwara M, Kataoka K, Arimochi H, Kuwahara T, Nakayama H, Ohnishi Y. Inhibitory effect of fluvastatin on ileal ulcer formation in rats induced by nonsteroidal antiinflammatory drug. World Journal of Gastroenterology. 2005;11(7):1040-3.
 25. Street J, Lenehan B. Vascular endothelial growth factor regulates osteoblast survival–evidence for an autocrine feedback mechanism. Journal of orthopaedic surgery and research. 2009;4(1):19-20.
 26. Liu G-Y, Hung Y-C, Hsu P-C, Liao Y-F, Chang W-H, Tsay G, et al. Ornithine decarboxylase prevents tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis by decreasing

- intracellular reactive oxygen species. *Apoptosis*. 2005;10(3):569-81.
27. Korakli M, Vogel RF. Structure/function relationship of homopolysaccharide producing glycosyltransferases and therapeutic potential of their synthesised glycans. *Applied microbiology and biotechnology*. 2006;71(6):790-803.
28. Knipp U, Birkholz S, Kaup W, Opferkuch W. Partial characterization of a cell proliferation-inhibiting protein produced by *Helicobacter pylori*. *Infection and immunity*. 1996;64(9):3491-6.
29. Ricci V, Ciacci C, Zarrilli R, Sommi P, Tummuru M, Del Vecchio Blanco C, et al. Effect of *Helicobacter pylori* on gastric epithelial cell migration and proliferation in vitro: role of VacA and CagA. *Infection and immunity*. 1996;64(7):2829-33.
30. Halper J, Leshin L, Lewis S, Li W. Wound healing and angiogenic properties of supernatants from *Lactobacillus* cultures. *Experimental Biology and Medicine*. 2003;228(11):1329-37.
31. Hirayama K, Rafter J. The role of probiotic bacteria in cancer prevention. *Microbes and infection*. 2000;2(6):681-6.
32. Rinkinen M, Jalava K, Westermarck E, Salminen S, Ouwehand AC. Interaction between probiotic lactic acid bacteria and canine enteric pathogens: a risk factor for intestinal *Enterococcus faecium* colonization? *Veterinary microbiology*. 2003;92(1-2):111-2.
33. Gotteland M, Brunser O, Cruchet S. Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*? *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2006;23(8):1077-86.
34. Bodana AR, Rao D. Antimutagenic Activity of Milk Fermented by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of dairy science*. 1990;73(12):3379-84.
35. Colbère-Garapin F, Martin-Latil S, Blondel B, Mousson L, Pelletier I, Autret A, et al. Prevention and treatment of enteric viral infections: possible benefits of probiotic bacteria. *Microbes and infection*. 2007;9(14):1623-31.
36. Ivec M, Botić T, Koren S, Jakobsen M, Weingartl H, Cencič A. Interactions of macrophages with probiotic bacteria lead to increased antiviral response against vesicular stomatitis virus. *Antiviral research*. 2007;75(3):266-74.
37. Chan ES, Zhang Z. Bioencapsulation by compression coating of probiotic bacteria for their protection in an acidic medium. *Process Biochemistry*. 2005;40(10):3346-51.
38. Trojanowska D, Konturek P, Pajdo R, Drozdowicz D, Kwiecin S. Are probiotics effective in the treatment of fungal colonization of the gastrointestinal tract? *Experimental and clinical studies*. *Journal of physiology and pharmacology*. 2006;57(9):35-49.