



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

اصغر سکوتی^۱، مهدی رهنما^{۱*}، میترا حیدری نصرآبادی^۲ و مریم ابراهیمی تاج آبادی^۳

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، گروه میکروبیولوژی، زنجان، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، گروه زیست جانوری، پرند، ایران.

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکز، گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران.

مسئول مکاتبات: meh_rahnema@yahoo.com

چکیده

زخم معده از بیماری‌های شایعی است که عواملی هم چون تغذیه نامناسب، عوارض دارویی و غیره باعث این بیماری می‌شود. درمان زخم معده با داروهای شیمیایی همراه با عوارض جانبی است و بروز مشکلاتی نظیر پدیده خود ایمنی باعث شده تا تلاش گسترده‌ای برای یافتن راه حل جایگزین درمان زخم معده صورت گیرد. باکتری‌های پروبیوتیک ارگانسیم‌های غالب فلور مجاری گوارشی هستند که اثرات سودمندی مخصوصاً در درمان بیماری‌های گوارشی دارند. یکی از مهم‌ترین گروه‌های پروبیوتیک، باکتری‌های لاکتیک اسید هستند، که به طور معمول در استارتر محصولات لبنی استفاده می‌شوند هدف از این مطالعه بررسی اثر ترمیمی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی جدا شده از محصولات لبنی سنتی بومی ایران بر ترمیم زخم معده موش نر نژاد ویستار است. موش‌ها بطور تصادفی به سه گروه ۳ تایی تجربی، کنترل ۱ و کنترل ۲ تقسیم شدند. موش‌ها پس از تحمل بیست و چهار ساعت گرسنگی، تحت عمل جراحی قرار گرفتند و زخم معده توسط تزریق ۰/۱۲ میلی لیتر اسید استیک (۶۰٪v/v) ایجاد شد. و یک روز پس از جراحی گروه تجربی مقدار 1×10^{10} cfu/day باکتری محلول در یک میلی لیتر شیر استریلیزه، کنترل ۱ یک میلی لیتر شیر استریلیزه و گروه کنترل ۲ یک میلی لیتر آب از طریق گاوژ تا زمان تشریح دریافت نمودند. موش‌ها را در روزهای ۱، ۴، ۷، ۱۰ و ۱۴ پس از ایجاد زخم معده کشته و ابعاد زخم معده در روزهای ذکر شده اندازه گیری شد. آنالیز آماری داده‌ها توسط نرم افزار SPSS انجام و نتایج آزمایش به صورت $Mean \pm SEM$ گزارش شد. مطالعات بافت شناسی در روز چهارم نشان دهنده افزایش معنی‌دار میزان نوتروفیل و ماکروفاژ در گروه تجربی نسبت به دو گروه دیگر و در روز هفتم نشان دهنده کاهش معنی‌دار میزان نوتروفیل، ماکروفاژ و فیبروبلاست در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل ۱ ($P < 0/05$) و کنترل ۲ ($P < 0/000$) بود. در روز ۱۰ و ۱۴ نیز کاهش معنی‌دار میزان نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها در گروه تجربی ($P < 0/000$) نسبت به دو گروه دیگر مشاهده گردید. سویه‌ی لاکتوباسیلوس کازئی ابعاد زخم را در گروه تجربی نسبت به دو گروه کنترل ۱ و کنترل ۲ به طور معناداری ($P < 0/001$) کاهش داده و دارای اثر ترمیمی قابل ملاحظه بر زخم معده ناشی از اسید استیک می‌باشد.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس کازئی، زخم معده، ترمیم

مقدمه

حمایت علمی دقیق بر سودمندی این باکتری‌های پروبیوتیک بنا نهاده شده بود که به طور خاص شامل گونه‌های *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* می‌شود [۲۹]. پروبیوتیک‌ها، کشت میکروارگانسیم‌های مفیدی

دیدگاه تنوع عملکرد میکروارگانسیم‌های روده‌ای انسان، توسط مطالعات کلینیکی با باکتری‌هایی که عملکردهای ویژه‌ای دارند و آنهایی که به عنوان پروبیوتیک‌ها، اثر مثبت بر سلامتی دارند به دست آمده است. تلاش‌های آغازین در

مثال‌هایی از غذاهای حاوی پروبیوتیک ماست تخمیری، شیر غیر تخمیری، Miso، empeh، بعضی از شربت‌ها و مشروبات سبوسی می‌باشد. در غذاها و مکمل‌های پروبیوتیکی، باکتری‌ها ممکن است در آغاز کار وجود داشته باشند و یا طی آماده سازی اضافه شوند [۲۷] اثرات پروبیوتیکی نسبت داده شده به باکتری‌های لاکتیک اسید و محصولات لبنی تخمیر شده نه تنها از تمام میکروارگانیسم‌ها و اجزای دیواره سلولی‌شان حاصل می‌شود، بلکه از متابولیت‌ها از قبیل پپتیدها و پلی ساکاریدهای خارج سلولی تولید شده در زمان تخمیر نیز ناشی می‌شود [۳۳]. تعیین توانایی تولید اگزوپلی ساکارید (EPS) توسط هر سویه پروبیوتیک دارای اهمیت است، زیرا اگزوپلی ساکارید اتصال میکروارگانیسم به دیواره روده را سبب می‌شود [۳۰]. اگزوپلی ساکارید تولید شده توسط این میکروارگانیسم‌ها خواص محرک سلامتی از قبیل تحریک ایمنی [۴]، فعالیت ضدزخم‌های گوارشی [۲۳] و کاهش کلسترول [۲۴] دارند. هم چنین این اگزوپلی ساکارید عموماً ضامن سلامتی شناخته می‌شود [۷].

پروبیوتیک‌ها ابتدا به وسیله پدر ایمونولوژی مدرن Elic Metchinkoff در شروع قرن بیستم، ۱۹۰۸ مطرح شدند. او ادعا کرد که خوردن ماست حاوی لاکتوباسیلوس موجب کاهش سم تولید شده به وسیله باکتری‌های مضر در روده و معده می‌شود و باعث افزایش طول عمر میزبان می‌گردد [۸ و ۱۰]. لبنیات دارای باکتری پروبیوتیک از جمله *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidiobacterium lactis* فعالیت قابل توجهی بر ترمیم زخم‌های گوارشی در مدل‌هایی که این زخم‌ها بر اثر استرس، اتانول و ایبوپروفن به وجود آمده بودند، دارند [۲۵]. علی‌رغم تأثیرات مثبت این باکتری‌ها، مطالعه نقش پروبیوتیک‌ها و تأثیرات سویه خاص بخصوص سویه‌های بومی ایران بر ترمیم زخم‌های گوارشی به طور کامل و گسترده بررسی نشده است. همچنین مصرف الکل، سیگار، شیوه زندگی و غیره باعث افزایش این بیماری

هستند که اگر به تعداد کافی مصرف شوند به حفظ تعادل جمعیت بومی روده، روی سلامتی میزبان اثرات مطلوبی می‌گذارند [۹]. 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 آنتی بیوتیک‌ها و سایر داروها، تعجب آور نیست که نوع و مقدار فلور طبیعی بدنمان تغییر کند [۱۹]. فاکتورهایی که تأثیرات منفی روی میان کنش میکروارگانیسم‌های روده‌ای با یکدیگر دارند نظیر استرس و رژیم غذایی منجر به تأثیرات مضر بر روی سلامتی خواهند بود [۲۱]. همچنین استفاده از آنتی-بیوتیک‌ها 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 تأثیرات مفیدی مانند بهبود سیستم ایمنی، جلوگیری از استقرار و رشد باکتری‌های بیماری‌زا، کاهش جذب کلسترول و کاهش احتمال ابتلا به سرطان کولون را دارند [۱۴]. استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌هایی که در محیط زنده با عوامل میکروبی پاتوژن مقابله می‌کنند از طریق خوراکی فرد را در برابر عوامل بیماری‌زا مصون کرده [۲] و می‌توانند به حفظ تعادل میکروبی و در نتیجه به روش‌های درمانی مختلف کمک کنند [۲۱]. 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 طبقه بندی سویه‌ها، به دلیل آن که منافع فقط ممکن است متعلق به سویه خاص باشد، تحقیقات را مشکل کرده است [۲۶]. پروبیوتیک‌ها در غذاها و مکمل‌های غذایی به صورت (کپسول‌ها، قرص‌ها، پودر) و سایر شکل‌ها موجود هستند.



باکتری مورد نظر به دست آید. سپس باکتری‌ها با سانتریفوژ ۴۰۰۰ دور برای ۲۰ دقیقه از محیط کشت جدا می‌شوند و دو بار با PBS استریل شده در (۷.۴) PH شستشو داده می‌شوند و در شیر استریلیزه، معلق می‌شوند. ماده تلقیح برای گروه تجربی شامل 10^1 cfu/ml محلول در شیر استریلیزه تعیین گردید.

ایجاد زخم معده: موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار (20 ± 250 گرم) به طور تصادفی به گروه تجربی، کنترل ۱ و کنترل ۲ دسته بندی شدند. رت‌های نر با یک رژیم آزمایشگاهی استاندارد تغذیه و به آن‌ها آب معمولی داده شد. قبل از جراحی رت‌ها برای ۲۴ ساعت از غذا محروم شدند، اما به طور آزاد به آب دسترسی داشتند. زخم معده توسط تزریق مستقیم محلول اسید استیک (۶۰٪ v/v) ایجاد شده صورتی که موش‌ها با داروی بی‌هوشی کتامین زایلازین بیهوش شدند. برش کوچکی در شکم ایجاد و معده خارج گردید. دو سر معده توسط گیره مسدود و ۱۲/۰ میلی لیتر محلول اسید استیک ۶۰٪ توسط یک سرنگ انسولینی به ناحیه تنه‌ی معده تزریق شد. بعد از ۴۵ ثانیه اسید خارج و معده توسط نرمال سالین شستشو داده شد. سپس معده را به جای اولیه باز گردانده و سطح شکم بخیه زده شد. رت‌ها در قفس‌های انفرادی قرار گرفتند و با یک رژیم غذایی استاندارد آزمایشگاهی و آب معمولی تغذیه شدند [۲۲].

روش سنجش بهبودی زخم: بهبود زخم با اندازه‌گیری وسعت زخم و درصد بهبود ارزیابی شد. وسعت زخم به ترتیب در روزهای ۱، ۷، ۱۰ و ۱۴ با واحد میلی متر مربع با استفاده از کاغذ شطرنجی اندازه‌گیری شد. 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 ۵۵۲ میلی متر مربع بود. درصد بهبود با استفاده از فرمول فوق در نظر گرفته شد.

شده و استفاده از داروهای شیمیایی در درمان زخم‌های گوارشی همراه با عوارض جانبی است. بنابر این 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 تجربی حاضر جهت بررسی اثر باکتری لاکتوباسیلوس کازئی 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 طراحی شده است.

مواد و روش کار

حیوانات مورد آزمایش: در این تحقیق از ۴۸ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار (20 ± 250 گرم) تهیه شده از دانشگاه شهید بهشتی استفاده شد. موش‌ها در قفس‌های انفرادی نگهداری و با آب و غذا تغذیه شده و در یک حیوان‌خانه که شرایط استاندارد در آن رعایت می‌شود نگهداری شدند.

گروه‌ها: ۱) گروه‌های تجربی: که تحت درمان باکتریایی پس از ایجاد زخم معده توسط اسید استیک قرار گرفتند و در روزهای ۱، ۷، ۱۰، ۱۴ مورد بررسی قرار گرفتند. ۲) گروه کنترل ۱: که شیر استریلیزه دریافت کرده و به ترتیب در روزهای ۱، ۷، ۱۰ و ۱۴ مورد بررسی قرار گرفتند. ۳) گروه کنترل ۲: که نرمال سالین دریافت کرده و به ترتیب در روزهای ۱، ۷، ۱۰ و ۱۴ مورد بررسی قرار گرفتند.

کشت باکتریایی: پس از تعیین کینیتیک رشد باکتری،

لاکتوباسیل کازئی در محیط *Lactobacilli* MRS broth برای ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد و در غلظت ۵٪ CO_2 رشد داده شد تا فاز ثابت به دست آید. توسط دستگاه اسپکروفتومتر جذب نوری آن اندازه‌گیری شد تا میزان

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

سطح زخم در روز اول

mm²**درمان باکتریایی و اندازه‌گیری ناحیه‌ی زخم گوارشی:**

روز جراحی روز صفر در نظر گرفته شد و یک روز پس از القای زخم، گروه‌های تجربی لاکتوباسیل در غلظت 10⁸ cfu/ml مخلوط در یک میلی لیتر شیر استریلیزه روزانه به صورت گاواژ دهانی دریافت کردند. گروه کنترل 1، 1 میلی لیتر شیر استریلیزه و گروه کنترل 2، 1 میلی لیتر نرمال سالین توسط سوزن گاواژ به مدت حداقل 14 روز دریافت کردند. موش‌ها در روزهای ذکر شده پس از ایجاد زخم معده کشته و معده بیرون آورده شد اندازه زخم (میلی متر) در دیواره قدامی و خلفی در هر معده تعیین شد. نمونه‌های معده برای تثبیت در داخل فرمالین 10٪ قرار گرفتند و پس از پاساژ و تهیه برش بافتی با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. سپس با استفاده از عدسی چشمی مدرج خط کش دار که بر روی میکروسکوپ نوری وصل می‌شود مقاطع بافتی از نظر تعداد فیبروبلاست، نوتروفیل، ماکروفاژ و گلبول سفید در واحد سطح بررسی شدند.

روش آماری: اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS17 و آنالیز واریانس یک طرفه *Ony way Anova* انجام گردید. معیار استنتاج آماری $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

درصد بهبود زخم معده در روز چهار افزایش معنی دار در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل 2 و گروه کنترل 1 ($P < 0.000$) از خود نشان داد. درصد بهبود زخم معده در روز هفتم افزایش معنی دار در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل 2 و کنترل 1 ($P < 0.000$) از خود نشان داد. همچنین

در گروه کنترل 1 نسبت به گروه کنترل 2 افزایش معنی دار ($P < 0.000$) مشاهده شد. آنالیز بافت معده در روز 10 نشان دهنده افزایش معنی دار در گروه تجربی نسبت به دو گروه دیگر ($P < 0.001$) است. بررسی ابعاد زخم در روز 14 نشان دهنده افزایش معنی دار گروه تجربی نسبت به گروه کنترل 2 ($P < 0.000$) و کنترل 1 ($P < 0.001$) می باشد.

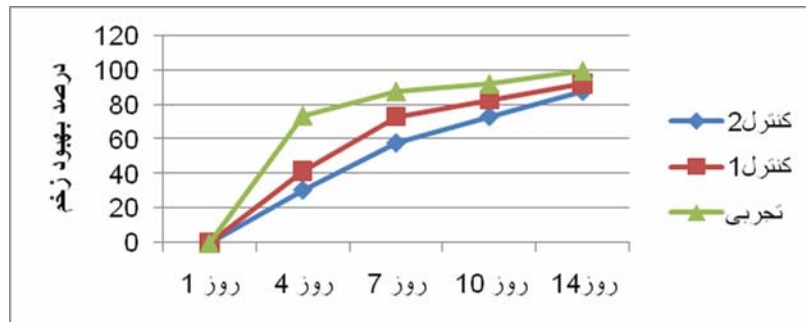
بررسی مطالعات بافت شناسی در روز چهارم نشان دهنده افزایش معنی دار میزان نوتروفیل در گروه تجربی نسبت به دو گروه دیگر ($P < 0.000$) داشت. میزان ماکروفاژ در گروه تجربی نسبت به دو گروه دیگر افزایش معنی دار ($P < 0.000$) داشت افزایش میزان فیبروبلاست در گروه تجربی نسبت به کنترل 1 ($P < 0.001$) و گروه کنترل 2 ($P < 0.000$) معنی دار بود، گروه کنترل 1 و کنترل 2 نیز افزایش معنی دار ($P < 0.000$) نشان دادند.

بررسی مطالعات بافت شناسی در روز هفتم نشان دهنده کاهش معنی دار میزان نوتروفیل در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل 1 ($P < 0.05$) و کنترل 2 ($P < 0.000$) مشاهده شد. میزان ماکروفاژ در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل 2 کاهش معنی دار ($P < 0.000$) و نسبت به گروه کنترل 1 کاهش معنی دار ($P < 0.001$) داشت. افزایش میزان فیبروبلاست در گروه تجربی نسبت به کنترل 1 ($P < 0.001$) و گروه کنترل 2 ($P < 0.000$) معنی دار مشاهده گردید. در روز 10 کاهش معنی دار میزان نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها در گروه تجربی نسبت به دو گروه دیگر مشاهده شد. در روز 14 نیز کاهش میزان نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها در گروه تجربی نسبت به دو گروه دیگر ($P < 0.000$) مشاهده گردید ولی میزان فیبروبلاست‌ها در گروه کنترل 2 نسبت به گروه کنترل 1 ($P < 0.001$) مشاهده شد.



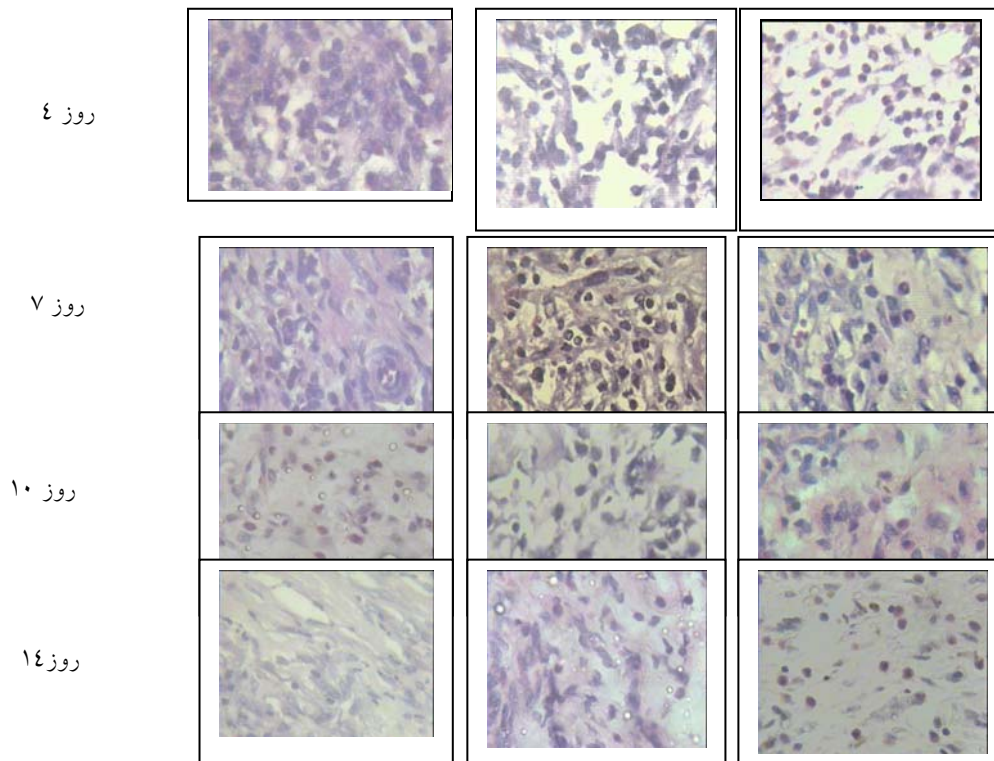
جدول ۱- مساحت زخم (میلی متر مربع) و درصد بهبودی زخم معده در گروه های کنترل ۲، کنترل ۱ و تجربی

روز	گروه	مساحت زخم (میلی متر مربع)	درصد بهبودی زخم معده
۴	کنترل ۲	$385/33 \pm 3/756$	$30/69 \pm 3/75$
	کنترل ۱	$323 \pm 3/605$	$41/90 \pm 3/60$
	تجربی	$145/66 \pm 5/783$	$73/80 \pm 5/78$
۷	کنترل ۲	$234/33 \pm 5/607$	$57/85 \pm 5/85$
	کنترل ۱	$148/33 \pm 2/728$	$73/32 \pm 2/72$
	تجربی	$67/66 \pm 2/905$	$87/83 \pm 2/90$
۱۰	کنترل ۲	$149/33 \pm 9/386$	$73/14 \pm 9/386$
	کنترل ۱	$83/09 \pm 6/429$	$83/09 \pm 6/429$
	تجربی	$92/09 \pm 1/027$	$92/08 \pm 6/027$
۱۴	کنترل ۲	$87/65 \pm 5/478$	$87/65 \pm 5/478$
	کنترل ۱	$92/56 \pm 6/385$	$92/56 \pm 6/385$
	تجربی	$99/70 \pm 1/201$	$99/70 \pm 1/201$



جدول ۲- شاخص های بافت شناسی ترمیم زخم معده در گروه های کنترل ۱، کنترل ۲ و تجربی

روز	شاخص گروه	نوتروفیل	ماکروفاژ	فیبروبلاست
	کنترل ۲	۱۴/۹۶±۱/۳۶۶	۱۳/۶۷±۰/۸۲۷	۳/۷۰±۰/۵۰۳
۴	کنترل ۱	۲۷/۵۳±۲/۱۲۵	۲۰/۴۳±۱/۴۶۹	۸/۵۶±۰/۸۳۱
	تجربی	۴۹/۴۶±۲/۷۴۵	۳۵/۳۰±۱/۵۶۴	۱۴/۹۰±۱/۵۱۱
	کنترل ۲	۲۴/۴۳±۱/۵۴۴	۴۰/۵۳±۳/۴۶۷	۱۰/۹۰±۰/۵۴۷
۷	کنترل ۱	۱۸/۳۶±۱/۸۶۹	۳۰/۰۳±۲/۸۵۶	۱۵/۶۳±۰/۷۶۴
	تجربی	۱۳/۷۶±۰/۹۷۴	۱۹/۵۶±۱/۱۶۵	۱۹/۲۶±۱/۳۳۵
	کنترل ۲	۱۶/۴۶±۱/۷۲۹	۲۵/۳۰±۱/۸۴۷	۱۵/۱۶±۰/۷۹۸
۱۰	کنترل ۱	۱۳/۳۰±۰/۷۶۲	۱۹/۵۳±۱/۷۸۸	۱۱/۰۶±۰/۹۸۷
	تجربی	۸/۷۳±۰/۵۷۱	۱۰/۸۰±۰/۹۶۶	۸/۳۶±۰/۸۳۵
	کنترل ۲	۹/۵۶±۰/۷۰۲	۱۱/۹۶±۰/۸۷۵	۱۳/۵۳±۱/۲۴۴
۱۴	کنترل ۱	۵/۶۰±۰/۸۸۱	۷/۹۶±۰/۵۹۰	۷/۱۶±۰/۷۷۱
	تجربی	۲/۶۶±۰/۳۷۵	۳/۹۰±۰/۴۹۶	۳/۶۳±۰/۴۵۸



بحث

مخلوط با باکتری‌های که در مطالعات قبلی اثر ترمیمی شان به اثبات رسیده کمکی در درمان زخم معده باشد. در مطالعه حاضر نشان داده شده که *Lactobacillus casei* جدا شده از فرآورده‌های لبنی سنتی ایران قادر به تسریع ترمیم زخم معده می‌باشد. تلقیح خوراکی *casei* *Lactobacillus* به مقدار 10^7 cfu/ml برای چهار روز متوالی اندازه زخم معده را تا ۷۶٪ کاهش داد. روند بهبود ناشی از مصرف ادامه دار این پروبیوتیک در روز چهاردهم پیشنهاد می‌کند که اثر *Lactobacillus casei* 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

مطالعات انجام گرفته بر روی باکتری‌های پروبیوتیک حاکی از این است که شیر حاوی *plantarum* *Lactobacillus* فعالیت ترمیمی بالایی نسبت به زخم معده حاد ناشی از اسید استیک در موش‌های صحرایی دارد [۱]. همچنین بررسی انجام گرفته بر روی باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus gasseri* نیز حاکی از این است که این باکتری فعالیت محافظتی بر ضد زخم معده حاد ناشی از اسید استیک در موش‌های صحرایی دارد [۳۲]. غنی‌سازی با سویه‌های *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium adolescentis* مانع از تشکیل زخم‌های روده شده است [۳۲ و ۱۲]. یافته‌های به دست آمده از *Lactobacillus casei* حاکی از این است که این باکتری می‌تواند درمان جایگزین یا



افزایش رگزایی و کاهش نسبت مرگ به تکثیر سلولی، فاکتورهای رشد از قبیل: افزایش بیان پروتئین اورنیتین دکربوکسیلاز (ODC) [۱۱] و (Bcl-2) [۳]، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEG)، و گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (EGF-r) [۱، ۶ و ۱۵] نقش دارند. در یک بررسی این نتیجه حاصل شد که با تیمار پروبیوتیک میزان ترمیم زخم‌های گوارشی ایجاد شده در اثر استرس که توسط EGF و پروستاگلاندین E2 صورت می‌گیرد به سبب کاهش آپوپتوزیس توسط تنظیم دقیق Bcl-2 در مخاط معدی افزایش می‌یابد [۵]. 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 افزایش سنتز کلاژن در روز چهاردهم مشاهده گردید که نشان دهنده تحریک سیستم ایمنی نیز می‌باشد. افزایش درصد بهبود زخم معده با توجه به فاکتورهای بیان شده حاکی از تأثیر مثبت این سویه در تسریع و تسهیل ترمیم زخم معده می‌باشد. هم‌چنین افزایش درصد بهبود در گروه کنترل ۱ نسبت به گروه ۲ مشهود می‌باشد. به علت وجود محصولات پروبیوتیکی، ویتامین‌ها، پروتئین‌ها مخصوصاً وجود کلسیم در شیر باعث خنثی شدن اسید معده شده و درصد بهبودی در گروه کنترل ۱ نسبت به گروه کنترل ۲ افزایش یافته. اما زمانی که لاکتوباسیلوس کازئی به شیر افزوده شد، این روند با سرعت بیشتری و اختلاف معنی دار بین دو گروه دیگر خود را نشان داد.

نتایج حاصل پیشنهاد می‌کند که غنی‌سازی با سویه لاکتوباسیلوس کازئی می‌تواند در تسریع ترمیم و ممانعت از تبدیل زخم معده حاد به مزمن و سرطان معده مفید باشد. امروزه محصولات لبنی غنی شده با باکتری‌های پروبیوتیک به یکی از موفق‌ترین اقلام صنایع غذایی تبدیل شده است. روزانه میزان زیادی از این محصولات پروبیوتیک از قبیل

دهنده کاهش معنی دار میزان نوتروفیل‌ها در واحد سطح و افزایش ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها بود هم‌چنین در روز چهاردهم در میزان نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و فیبروبلاست کاهش معنی دار مشاهده شد. نکته قابل توجه مکانیزم‌هایی است که به واسطه آن، این اثرات اعمال می‌شود.

سویه‌های زنده پروبیوتیک مقاومت سلول‌های اپیتلیالی را افزایش می‌دهند، فسفوریلاسیون پروتئین‌های سیتواسکلتون و اتصالات محکم در سلول‌های Caco-2 و HT-29 را تسهیل می‌کنند. هم‌چنین متابولیت‌های پروبیوتیک‌ها رگزایی را القاء می‌کنند و باعث انباشت پروتئوگلیکان‌ها می‌شوند و زخم را ترمیم می‌کنند [۲۰ و ۳۱]. از مکانیزم‌های مهم و دخیل در ترمیم زخم معده می‌توان به کاهش نسبت مرگ سلولی به تکثیر سلولی [۱۷ و ۱۸] و افزایش رگزایی [۱۳ و ۲۸]. در غشای مخاطی معده اشاره کرد. سویه‌های پروبیوتیک، فاکتورهای قابل حل تولید می‌کنند که فعالیت شبیه کموتریپسین پروتئوزوم در سلول‌های اپی‌تلیالی روده ای را مهار می‌کند، بنا بر این مسیر NF-Kb و بیان پروتئین شوک گرمایی سایتوپروتکتیو را مهار می‌کنند. این باکتری‌ها قادر به ترمیم اپیتلیالی 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 اپی‌تلیالی را ارتقاء بخشند، پروبیوتیک‌ها می‌توانند استحکام و ثبات سلولی را توسط عملکرد سد روده‌ای در طی تعدیل فسفوریلاسیون پروتئین‌های سیتواسکلتون و اتصال محکم تحت تأثیر 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 [۱۶]. در فرآیند



در موش صحرائی، مجله دانشگاه علوم پزشکی ایران، آبان ماه ۱۳۸۹، دوره هفدهم، شماره ۷۷.

۲- فاضلی، ع. قاسمیان صفایی، ح. میرنژاد، ر. بررسی کاهش کلونیزاسیون اشرشیاکلی انتروتوکسیژنیک (لاکتوباسیلوس کازی) در موش آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، ۱۳۸۷ دوره ششم، شماره ۱، صص ۲۶-۳۳.

3- Bodana, A. R., Rao, D. R. (1990), Antimutagenic activity of milk fermented by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus*. J.Dairy Sci, Vol 73, PP:3379-3384.

4- Chabot S., Yu H.L., Leseleuc L., Cloutier D. (2001), Exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M stimulate TNF, IL-6 and IL-12 in human and mouse cultured immunocompetent cells, and IFN-g in mouse splenocytes. Lait, 81: 683-87.

5- Chan E.S., Zhang Z. (2005), Bioencapsulation by compression coating of probiotic bacteria for their protection in an acidic medium.

6- Colbe re-Garapin F., S. Martin-Latil, Bruno Blondel, Laurence Mousson, Isabelle Pelletier, Arnaud Autret, Alan Francois, Violeta Niborski, Gianfranco Grompone, Guillaume Catonnet, Ariane van de Moer. (2007), Prevention and treatment of enteric viral infections: Possible benefits of probiotic bacteria.

7- Desai KM, Akolkar SK, Badhe YP, Tambe SS, Lele SS. (2006), Optimization of fermentation media for exopolysaccharide production from *Lactobacillus plantarum* using artificial intelligence-based techniques. Proc Biochem, 41: 1842-48.

8- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. (1956), Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal Chem, 28: 350-56.

9- Durlu-Ozkaya F, Aslim B, Ozkaya M. (2007), Effect of exopolysaccharides (EPSs) produced by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgarius* strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. LWT, 40: 564-68.

ماست‌ها و نوشیدنی‌های پروبیوتیک در اکثر نقاط دنیا تولید می‌شود [۱].

اگر چه میزان و سویه این باکتری‌ها در محصولات شرکت‌های تولید کننده گوناگون متفاوت می‌باشد، اما در بسیاری از این محصولات از تعدادی سویه‌های مشخص استفاده می‌شود که دارای خواص سودمند بیشتری نسبت به دیگر سویه‌ها می‌باشند. این سویه‌ها عبارتند از: *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus casei* و *Lactobacillus rhamnosus*

که همگی دارای منشاء انسانی بوده و با نام تجاری خاص خود در بازار شناخته می‌شوند [۳۰ و ۳۴]. در مجموع در این بررسی نشان داده شد که لاکتوباسیلوس کازئی جدا شده از فرآورده‌های لبنی ایران قابلیت تسریع و تسهیل ترمیم زخم معده را دارا است. همچنین با توجه به این که این سویه بومی ایران می‌باشد با فلور روده ای مردم ایران سازگار بوده و با توجه به تولید بالای اگزوپلی ساکارید، می‌تواند سویه‌ای مفید محسوب شود.

امید است نتایج این بررسی و تحقیقات بیشتر در زمینه اهمیت و نقش پروبیوتیک‌های بومی ایران بتواند در آینده در درمان بیماری‌ها به خصوص بیماری‌های گوارشی، موثر واقع شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از قسمت تحقیقات دانشگاه آزاد زنجان و نیز کلیه کسانی که ما را در این تحقیق یاری نمودند، تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

۱- ابوطالبی، ه. حیدری نصرآبادی، م. تاج آبادی ابراهیمی، م. شعبانی، م. زاهدی، ف. ۱۳۸۹. اثر ترمیمی لاکتوباسیلوس پلانٹاروم جدا شده از پنیر سنتی ایران بر زخم معده ناشی از اسید استیک



- 19- Kruis, W. (2004), Antibiotics and probiotics in inflammatory disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 4: 75-78.
- 20- Liu GY, Hung YC, Hsu PC, Liao YF, Chang WH, Tsay GJ, et al. (2005), Ornithine decarboxylase prevents tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis by decreasing intracellular reactive oxygen species. *Apoptosis*, 10: 569-81.
- 21- Lourens-Hattingh. Analie., Bennie , C. Viljoen (2001), Yogurt as probiotic carrier food *International Dairy Journal*, 11(1-2): 1-17.
- 22- Ma L, Chow JY, Cho CH. (1999), Cigarette smoking delays ulcer healing: role of constitutive nitric oxide synthase in rat stomach. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 276: G238-G48.
- 23- Nagaoka M, Hashimoto S, Watanabe T, Yokokura T, Mori T. (1994), Anti-ulcer effects of lactic acid bacteria and their cell wall polysaccharides. *Biol Pharm Bull*, 17: 1012-17.
24. Nakajima H, Suzuki Y, Kaizu H, Hirota T. (1992), Cholesterol lowering activity of rropy fermented milk. *J Food Sci*, 57: 1327-29.
- 25- Neelima M, Sujatha D, Bharathi K, Kumar A, Koganti P. (2007), Evaluation of a probiotic dairy product for antiulcer activity in rats. *Int J Probio & Prebio*, 2(2/3): 137-40 .
- 26- Nils-Georg A, Roland M, Lisa N, Torkel W. (2004), Probiotics in gastric and intestinal disorders as functional food and medicine. *Scand J Nutr*, 48(1): 15-25.
- 27- Oyetayo.V. O. oyetayo.F.L. (2004), Review Potential of probiotics as biotherapeutic agents targeting the innate immune system. *African journal of biotechnology*, 4(2): 123-127
- 28- Ricci V, Ciacci C, Zarrilli R, Sommi P. (1996), Effect of *Helicobacter pylori* on gastric epithelial cell migration and proliferation in vitro: role of VacA and CagA. *Infect Immun*, 64: 2829-33.
- 29- Saxelin M, Tynkkynen S, Mattila-Sandholm T, de Vos Willem M. (2005), Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. *Curr Opin Biotechnol*, 16: 204-11.
- 10- Fuller, R. (2003), History and development of probiotics.
- 11- Gotteland, M., Brunser, O., Cruchet, S. (2006), Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*? *Alimentary Pharmacology & therapeutics Journal*, 3. 1077-1086.
- 12- Hagiwara M, Kataoka K, Arimochi H, Kuwahara T, Nakayama H, Ohnishi Y. (2005), Inhibitory effect of fluvastatin on ileal ulcer formation in rats induced by nonsteroidal anti-inflammatory drug. *World J Gastroenterol*; 11(7): 1040-43.
- 13- Halper J, Leshin LS, Lewis SJ, Li WI. (2003), Wound healing and angiogenic properties of supernatants from *Lactobacillus* cultures. *Exp Biol Medicine*; 2003. 228: 1329-37.
- 14- Holzapfel WH. (1998), Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of food Microbiology*, 41:85-101.
- 15- Ivec M.. T. Botić Srećko Korn, M. Jakobsen .H. Weingartl, A. Cencic (2007), Interactions of macrophages With probiotic bacteria lead to increased antiviral response against vesicular stomatitis virus .*Antiviral Research*, 75: 266-274.
- 16- Kazuhiro Hirayama . Joseph Rafter (2000), The role of probiotic bacteria in cancer prevention.
- 17- Knipp U, Birkholz S, Kaup W, Opferkuch W. (1996), Partial characterization of a cell proliferation-inhibiting protein produced by *Helicobacter pylori*. *Infect Immun*, 64: 3491-96.
- 18- Korakli M. (2006), Structure/function relationship of homopolysaccharide producing glycanases and therapeutic potential of their synthesised glycans. *Appl Microbiol Biotechnol*, 71:790-803.



gastric lesion and antral ulcer in rats. *J Pharmacol Sci*, 96: 84-90.

33- Vinderola G, Perdigo'n G, Duarte J, Farnworth Edward E, Matar CH. (2006), Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* on the gut mucosal immunity. *Cytokine*, 36: 254-60.

34- Zwolinska-Wcislo M, Brzozowski T, Mach T, Budak A, Trojanowska D. (2006), Are probiotics effective in the treatment of fungal colonization of the gastrointestinal tract? *J Physiol & Pharmacol*, 57(9): 35-49.

30- Schiraldi CV, Valli A, Molinaro M, Carteni M, De Rosa. (2006), Exopolysaccharides production in *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus casei* exploiting microfiltration. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 33: 384-390.

31-- Street J, Lenehan B. (2009), Vascular endothelial growth factor regulates osteoblast survival –evidence for an autocrine feedback mechanism. *J OSR*, 4(19): 1-13.

32- Uchida, M., Kurakazu, K. (2004), Yogurt containing *Lactobacillus gasseri* OLL2716 exerts gastroprotective action against acute

