

مقاله پژوهشی

تأثیر پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس بر سطح سوپراکسید دسموتاز و مالون دی آلدئید در بافت کلیه موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

زهرا کشتمند*

* گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* (نویسنده مسئول مکاتبات): Zahra.keshtmand@iau.ac.ir, zkeshtmand2001@gmail.com

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: بهمن ۱۴۰۳

چکیده

دیابت قندی از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیکی بوده و از طریق افزایش استرس اکسیداتیو باعث ایجاد آسیب در کلیه می‌شود. استفاده از آنتی اکسیدان‌ها باعث کاهش استرس اکسیداتیو شده و میزان آسیب را کاهش می‌دهند. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس بر سطح سوپراکسید دسموتاز و مالون دی آلدئید بافت کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌باشد.

در این مطالعه تجربی ۲۸ سر موش صحرایی نر ویستار به چهار گروه کنترل، دیابتی، گروه‌های دیابتی تیمار با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس تقسیم‌بندی شدند. گروه‌های دیابتی شده (نوع ۱) با استرپتوزوتوسین (دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم) با تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و پروبیوتیک‌ها به مدت ۳۵ روز گاوژ شدند. در پایان هفته پنجم، سطح گلوکز، انسولین، سوپراکسید دسموتاز و مالون دی آلدئید بافت کلیه مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های به دست آمده با نرم افزار SPSS، آزمون واریانس یک طرفه، تست توکی و P کمتر از ۰/۰۵ ارزیابی شد. در مطالعه حاضر سطح گلوکز و انسولین خون، سوپراکسید دسموتاز و مالون دی آلدئید در بافت کلیه گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P < 0/001$). در گروه‌های تیمار شده با لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در مقایسه با گروه دیابتی نیز تغییرات معنی‌دار نشان داده شد ($P < 0/05$). این مطالعه نشان داد که در موش‌های دیابتی مصرف پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو اثر مثبت دارد.

کلیدواژه‌ها: استرپتوزوتوسین، دیابت، سوپراکسید دسموتاز، مالون دی آلدئید، پروبیوتک، موش صحرایی.

مقدمه

سلول‌های بتا جزایر لانگرهانس و یا به علت مقاومت بدن در برابر انسولین ایجاد می‌شود دیابت می‌باشد که نتیجه آن افزایش قند خون است [۱]. با توجه به اینکه در بیماری دیابت بافت‌های

از شایع‌ترین و مهم‌ترین بیماری‌های مربوط به اختلال در سوخت و ساز بدن که، به علت ساخته نشدن یا کاهش انسولین توسط

بدن دچار استرس اکسیداتیو می‌شوند، پژوهش‌ها نشان داده است با توجه به برهم خوردن تعادل سیستم‌های دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی، میزان پراکسیداسیون سلولی افزایش یافته و به دام اندازنده‌ی رادیکال‌های آزاد در سلول‌های بیماران دیابتی دچار اختلال شده و منجر به آسیب‌های متعدد و شدیدی در اندام‌های مختلف بدن از جمله کلیه افراد دیابتی می‌گردد [۲].

از جمله علائم آسیب کلیوی ناشی از دیابت می‌توان به افزایش ضخامت غشای پایه گلوامرول‌ها، گسترش بافت بینابینی کلیه، افزایش غلظت کراتینین، اوره و کاهش نسبت اوره به کراتینین اشاره کرد. که دیابت با اختلال در متابولیسم گلوکز و پروتئین‌ها موجب بروز مشکلات ذکر شده در کلیه می‌شود [۳ و ۴].

در شرایط آزمایشگاهی برای القا دیابت در مدل‌های حیوانی از داروهای استرپتوزوتوسین و آلوکسان استفاده می‌شود [۵ و ۶]. عملکرد استرپتوزوتوسین در القا دیابت با وارد شدن این دارو به سلول‌های بتا پانکراس از طریق ناقل گلوکز می‌باشد و با الکلی کردن مولکول DNA و تشکیل رادیکال‌های آزاد سبب تولید استرس اکسیداتیو می‌شود، همچنین استرپتوزوتوسین میزان آزاد شدن نیتریک اکساید را که سبب تخریب DNA می‌شود را افزایش داده و با تخریب سلول‌های بتا پانکراس سبب القا دیابت می‌گردد [۷]، استرس اکسیداتیو و آسیب‌های ناشی از آن باعث بروز انواع مختلفی از فرایندهای پاتولوژیک در بیماری‌های مختلف از جمله دیابت می‌شود. صدمات اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن از عوامل بسیار مهم و مؤثر در اتیولوژی عوارض ناشی از بیماری دیابت محسوب می‌شوند [۸].

ترکیب میکروفلور روده در تعیین میزان التهاب که در دیابت نقش دارد مؤثر است، به این صورت وقتی تعادل میکروفلور روده از بین برود و نسبت باکتری‌های گرم مثبت به گرم منفی در روده کاهش یابد میزان دسترسی به لیپوپلی ساکاریدها و سایر مولکول‌های پیش التهابی و انتقال آن‌ها به گردش خون افزایش می‌یابد و همین موضوع موجب افزایش ترشح سیتوکین‌ها، فعالیت ماکروفاژها و در نهایت بروز التهاب در بدن می‌شود [۹]. سیتوکین‌های التهابی، پیام‌رسانی از راه گیرنده‌های انسولین را دچار اختلال می‌کنند و موجب ایجاد مقاومت انسولینی می‌شود.

هم چنین ترشح انسولین را کاهش داده و موجب القا مرگ برنامه ریزی شده سلول‌های بتا پانکراس می‌شود. به طور کلی عدم تعادل میکروفلور روده در پیشرفت بیماری دیابت نقش دارد [۱۰].

اثرات جانبی متعدد داروهای دیابتی بر اندام‌های مختلف و هزینه‌های بالا، سبب شده است پژوهشگران به دنبال شناسایی ترکیبات طبیعی و مؤثر با عوارض جانبی کمتر باشند. همچنین، تقویت سیستم آنتی اکسیدانی در این بیماران می‌تواند تا حدودی مانع از ایجاد و پیشرفت عوارض این بیماری گردد و استفاده از آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی (ویتامین‌ها، عناصر کمیاب) و مواد غذایی سودمند مانند پروبیوتیک‌ها، می‌تواند یک ترکیب غیر دارویی مناسب برای پیشگیری از دیابت و کاهش عوارض آن باشد [۱۱]. با توجه به این که میکروفلور بدن انسان در تعادل قند خون اهمیت بسیار زیادی دارد و پروبیوتیک‌ها نیز از میکروفلور بدن الهام گرفته شده‌اند از این رو به نظر می‌رسد که بتوان از آن‌ها برای پیشگیری و درمان کارآمد بیماری دیابت بهره برد. این موجودات مفید از راه ایجاد تعادل میکروبی در روده، اثرات مفید و مؤثری بر میزان خود دارند که این خود سبب افزایش تمایل افراد به استفاده از پروبیوتیک‌ها گردیده است [۱۲].

در بین پروبیوتیک‌ها، لاکتوباسیلوس‌ها از توجه بیشتری برخوردارند و از اجزای اصلی فلور میکروبیوتای انسان و دیگر حیوانات هستند. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اگر به میزان مناسب مصرف شوند نتایج مفیدی برای سلامت میزبان در پی خواهند داشت. این میکروارگانیسم‌ها از طریق تقویت سیستم ایمنی، رقابت با عوامل بیماری‌زا و بیگانه، کاهش آسیب‌های التهابی و افزایش سطح آنتی اکسیدانی بدن مانند: سوپراکسید دسموتاز و گلوکاتون پراکسیداز استرس - اکسیداتیو را مهار می‌کنند [۱۳].

با توجه به اثرات مفید پروبیوتیک‌ها و توانایی آن‌ها در پایین آوردن میزان گلوکز در بیماری دیابت، در این تحقیق تأثیر پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازنی^۱ و بیفیدوباکتریوم لاکتیس^۲ بر سطح سوپراکسید دسموتاز و مالون دی آلدید بافت کلیه موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بررسی شد.

¹ *Lactobacillus casei*

² *Bifidobacterium lactis*

مواد و روش‌ها

حیوان آزمایشگاه

در این مطالعه تجربی تعداد ۲۸ سرموش بالغ نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم، از مؤسسه تحقیقاتی انستیتو پاستور خریداری و به منظور سازگار شدن با شرایط محیط، به مدت یک هفته قبل از شروع آزمایش در حیوان‌خانه، تحت شرایط آزمایشگاهی و در دمای 20 ± 2 و در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. کارهای آزمایشگاهی این تحقیق، منطبق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و اصول اخلاقی مورد تایید دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی انجام شد.

گروه‌بندی موش‌ها

موش‌ها به صورت تصادفی به ۴ گروه ۷ تایی طبقه بندی شدند.

گروه اول (گروه کنترل): موش‌هایی که هیچ دارویی به آن‌ها داده نشد و فقط با آب و غذا تغذیه شدند.

گروه دوم: موش‌هایی که به آن‌ها دارو استرپتوزوتوسین به صورت تک دوز به مقدار 60 kg/ml و درون صفاقی تزریق شد [۱۴].

گروه سوم: موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین که پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازنی با دوز 10^9 (واحد تشکیل کلنی بر میلی لیتر) آن‌ها گاوژ گردید.

گروه چهارم: موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، که پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس با دوز 10^9 (واحد تشکیل کلنی بر میلی لیتر) به آن‌ها گاوژ گردید.

مدت زمان گاوژ پروبیوتیک‌ها ۳۵ روز و در یک ساعت مشخص (۸ تا ۱۰ صبح) انجام شد. موش‌ها در قفس‌های فلزی و در هر قفس ۲ سر موش صحرایی نگه داری و بدون محدودیت، دسترسی به آب و غذا را داشتند. جهت یکسان بودن شرایط موش‌ها در طول دوره تیمار، به گروه اول و دوم نیز روزانه، مقدار کمی از آب، به صورت گاوژ داده شد.

تزریق دارو و تعیین دوز

داروی استرپتوزوتوسین به صورت پودری از شرکت سیگما (St. Louis, MO, USA) تهیه شد و باتوجه به وزن بدن موش‌ها و القا

دیابت نوع یک، دوز ۶۰ میلی گرم برکیلوگرم به صورت تک دوز و درون صفاقی به حیوانات تزریق گردید. جهت بررسی دیابتی شدن موش‌ها در روز سوم، پنجم، هفتم و چهاردهم گلوکز خون آن‌ها اندازه‌گیری شد. برای گرفتن قندخون باید موش‌ها قبل آزمایش به مدت ۸ ساعت ناشتا بودند و گلوکز خون بالاتر از 250 mg/dl ملاک دیابتی در نظر گرفته شد [۱۴].

روش تهیه و آماده‌سازی پروبیوتیک

در این مطالعه دو نوع پروبیوتیک لاکتو باسیلوس کازنی (*IBRC_M10783*) و بیفیدوباکتریوم لاکتیس (*TG-57*) از شرکت تک ژن و به صورت پودری تهیه گردید. برای تهیه محلول به ازای هر موش، ۱ گرم از پروبیوتیک در ۹ ml آب مقطر حل شد [۱۵].

تعیین سطح گلوکز خون

گلوکز خون تمام موش‌ها در ابتدای مطالعه قبل و بعد از تزریق در روزهای صفر، سوم، هفتم، چهاردهم و بعد از دوره تیمار اندازه‌گیری شد.

برای اندازه گیری سطح گلوکز خون از گلوکومتر استفاده شد [۱۴] در این روش، قطره ای از خون با لانس زدن به دم حیوان مستقیماً بر روی نوار کاغذی گلوکومتر منتقل و بعد از چند ثانیه، دستگاه غلظت گلوکز خون را برحسب mg/dl نشان داد. برای ارزیابی دقت اندازه گیری با این روش، میزان گلوکز خون یک موش صحرایی، ۳ مرتبه متوالی اندازه گیری شد.

ارزیابی مارکهای استرس اکسیداتیو

بعد از گذشت ۳۵ روز از شروع آزمایش، پس از بیهوشی حیوانات توسط کتامین- زایلانین ۱% ($100 \text{ میلی گرم زایلانین}$ $1000 \text{ میلی گرم کتامین}$)، بافت کلیه جهت سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتسو استخراج شد.

جهت سنجش سطح سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و سطح مالون دی آلدید در بافت کلیه، کیت‌های مربوطه از شرکت پارس آزمون (۴۸ تستی با برند Zellbii-GmbH) خریداری گردید.

سنجش فعالیت سوپراکسید دسموتاز

۲۰ میکرولیتر از بافت کلیه همورژنه شده به همراه، EDTA ۰/۱ مولار در سدیم سیانید ۰/۳ میلی مولار و NBT ۱/۵ میلی مولار در یک کووت اضافه و بعد از مخلوط کردن به مدت ۵ تا ۸ دقیقه در دمای ۳۷ درجه قرارگرفت. سپس بعد از اضافه کردن ربوفلاوین ۱۲ / ۰ میلی مولار در بافر فسفات پتاسیم ۰/۶۷ مولار با pH=۷/۸، به مدت ۱۰ تا ۱۲ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار داده و جذب در طی ۵ دقیقه در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد [۱۶].

سنجش شاخص پراکسیداسیون لیپیدی بافت کلیه

۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌ی همورژنه بافت کلیه را داخل لوله آزمایش ریخته شد. سپس ۲ سی سی از محلول حاوی TCA ۱۵ درصد، HCL ۰/۲۵ نرمال و تیوباریتوریک ۰/۳۷ درصد (به نسبت حجمی ۱:۱:۱) به لوله‌های آزمایش اضافه گردید. در ادامه این لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری آب جوش قرار داده شدند، سپس سانتریفیوژ شده و جذب نوری مایع رویی در طول موج ۵۳۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد [۱۷].

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها به دست آمده، توسط نرم افزار SPSS ورژن ۲۳ و با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس یکطرفه، (One way ANOVA) و آزمون متعاقب توکی انجام شد. یافته‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان و سطح معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. همچنین با استفاده از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف از نرمال بودن داده‌ها اطمینان حاصل شد. ($P > 0/05$)

نتایج

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که، در موش‌های صحرایی دیابتی شده میزان گلوکز خون نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/001$). در موش‌های صحرایی دیابتی تیمار شده با پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازنی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس کاهش سطح گلوکز خون در مقایسه با گروه دیابتی نشان داده شد (جدول ۱).

سطح انسولین نیز در گروه‌های مختلف اندازه‌گیری و نشان داده شد در گروه‌های دیابتی شده سطح انسولین کاهش معنا داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($P < 0/001$) در حالی که در گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک سطح انسولین در مقایسه با گروه دیابتی افزایش را نشان داد ($P < 0/05$) (نمودار ۱).

سطح سوپراکسید دسموتاز و مالون دی آلدهید در گروه‌های مورد آزمایش اندازه‌گیری شد، نتایج نشان داد که میزان مالون دی آلدهید در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری و در گروه‌های دیابتی تیمار شده با پروبیوتیک‌ها در مقایسه با گروه دیابتی کاهش معنادار را نشان داده شد. در مورد سوپراکسید دسموتاز کاهش معنا در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل و افزایش معنادار در دو گروه دریافت پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازنی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در مقایسه با گروه دیابتی مشاهده شد. ($P < 0/05$) (نمودار ۲ و ۳).

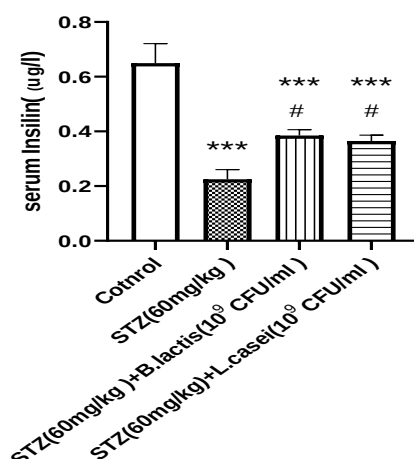
تغییرات سطح گلوکز، انسولین، سوپراکسید دسموتاز و مالون دی آلدهید در گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس در مقایسه با گروه تیمار شده با لاکتوباسیلوس کازنی بیشتر بود اما این تغییرات به صورت معنادار بین این دو گروه نشان داده نشد.

جدول ۱- مقایسه سطح گلوکز خون (mg/dl) قبل و بعد از تزریق استریتوزتوسین در روزهای مختلف در گروه‌های آزمایش

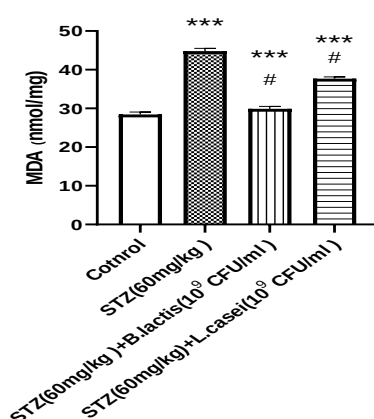
نام گروه	روز ۰	روز ۳	روز ۷	روز ۱۴	روز ۳۵
کنترل	۷۰/۱ $\pm$ ۲۱/۹۵	۰۳/۱ $\pm$ ۷۸/۹۸	۰۶/۱ $\pm$ ۲۶/۱۰۰	۹۸/۰ $\pm$ ۱۸/۱۰۳	۰۵/۱ $\pm$ ۷۶/۹۹ ***
دیابتی شده	۳۶/۱ $\pm$ ۹۸/۷۶	۹۱/۲ $\pm$ ۱۱/۲۶۸	۰۸/۳ $\pm$ ۴۳/۳۲۵	۷۸/۶ $\pm$ ۶۱/۴۶۵	۷۳/۵ $\pm$ ۲۷/۶۰۸ ***
دیابتی شده+ دریافت‌کننده بیفیدوباکتریوم لاکتیس	۹۸/۰ $\pm$ ۵۴/۱۰۱	۰۶/۲ $\pm$ ۸۹/۲۵۹	۱۲/۳ $\pm$ ۵۴/۳۲۰	۹۳/۶ $\pm$ ۱۲/۴۴۸	۲۳/۲ $\pm$ ۵۱/۲۴۵ ***

نام گروه	روز ۰	روز ۳	روز ۷	روز ۱۴	روز ۳۵
دیابتی شده+ دریافت کننده لاکتوباسیلوس کازنی	۷۸/۰±۴۱/۱۰۲	۱۱/۱±۶۷/۲۵۴	۸۷/۲±۹۲/۳۱۸	۷۵/۵±۴۲/۴۳۸	۰۵/۲±۱۸/۲۶۱
		***	***	***	***
					###

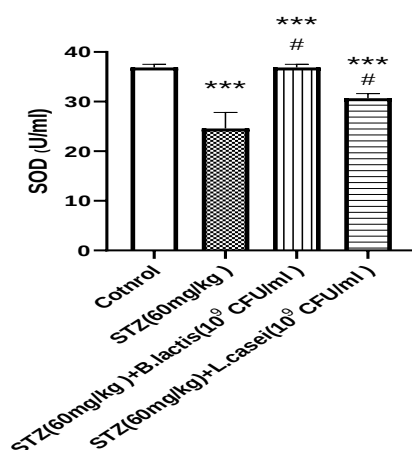
مقادیر بر اساس میانگین $\pm$ خطای معیار میانگین آورده شده است.
 علامت *** نشان دهنده سطح اختلاف معنی دار $P < 0/001$ با گروه کنترل
 علامت ### نشان دهنده اختلاف معنی دار $P < 0/001$ در مقایسه با گروه دیابتی



نمودار ۱- مقایسه سطح انسولین در گروه‌های مختلف مورد آزمایش.
 مقادیر بر اساس میانگین $\pm$ خطای معیار میانگین آورده شده است.
 علامت *** نشان دهنده سطح اختلاف معنی دار $P < 0/001$ با گروه کنترل
 علامت # نشان دهنده اختلاف معنی دار $P < 0/05$ در مقایسه با گروه دیابتی.
 استرپتوزوسین (STZ)، بیفیدوباکتریوم لاکتیس (*B.lactis*) و لاکتوباسیلوس کازنی (*L.casei*).



نمودار ۲- مقایسه سطح مالون دی آلدئید در گروه‌های مختلف آزمایش
 مقادیر بر اساس میانگین $\pm$ خطای معیار میانگین آورده شده است.
 علامت *** نشان دهنده سطح اختلاف معنی دار $P < 0/001$ با گروه کنترل
 علامت # نشان دهنده اختلاف معنی دار $P < 0/05$ در مقایسه با گروه دیابتی.
 استرپتوزوسین (STZ)، بیفیدوباکتریوم لاکتیس (*B.lactis*) و لاکتوباسیلوس کازنی (*L.casei*).



نمودار ۳. مقایسه سطح سوپراکسید دسموتاز در گروه‌های مختلف آزمایش

مقادیر بر اساس میانگین $\pm$ خطای معیار میانگین آورده شده است.

علامت *** نشان‌دهنده سطح اختلاف معنی‌دار $P < 0.001$ با گروه کنترل

علامت # نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار $P < 0.05$ در مقایسه با گروه دیابتی.

استرپتوتوسین (STZ)، بیفیدوباکتریوم لاکتیس (*B.lactis*) و لاکتوباسیلوس کازنی (*L.casei*).

بحث

سبب کاهش گلوکز و افزایش انسولین خون و تعدیل شاخص‌های استرس اکسیداتیو بافت کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوتوسین شد.

در موش‌های دیابتی شده افزایش گلوکز، کاهش انسولین خون، افزایش سطح مالون دی آلدید و کاهش سوپراکسید دسموتاز بافت کلیه مشاهده شد در حالی که در گروه‌های دیابتی تیمار شده با پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازنی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس تعدیل سطح مارکرهای نشان داده شد.

در بخش دیگری از این مطالعه‌ی تجویز لاکتوباسیلوس کازنی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس به موش‌های دیابتی باعث افزایش سطح سوپراکسید دسموتاز و کاهش مالون دی آلدید نسبت به موش‌های دیابتی درمان نشده گردید.

در مطالعه‌ی حاضر احتمالاً اثرات ایجاد دیابت توسط استرپتوتوسین حداقل بخشی به تولید بیش از حد گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن مربوط می‌شود که منجر به مسمومیت سلول‌های پانکراسی شده و سنتز و آزادسازی انسولین را کاهش می‌دهند. اتو اکسیداسیون گلوکز در دیابت مقادیر زیادی رادیکال‌های آزاد اکسیژن را تولید می‌کند. این رادیکال‌های آزاد اکسیژن مسئول تخریب اکسیداتیو لیپیدهای اشباع نشده هستند [۲۱]. از سویی، هایپرگلیسمی می‌تواند باعث کاهش سطح آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز از طریق افزایش کوفاکتور ضروری آنزیم

این تحقیق، با هدف تعیین میزان تغییرات سطح سوپراکسید دسموتاز و مالون دی آلدید در بافت کلیه موش‌های صحرایی دیابتی تیمار شده با پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازنی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس انجام شد.

در مطالعات انجام شده، نشان داده شد که تزریق استرپتوتوسین جهت القا دیابت بر سطح شاخص‌های استرس اکسیداتیو اثر گذاشته و سبب افزایش مالون دی آلدید و کاهش سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز، ظرفیت آنتی‌اکسیدان شد [۱۸، ۱۹].

دیابت، کمپلکسی از اختلالات متابولیک است که به وسیله‌ی هایپرگلیسمی متمایز می‌شود و در نتیجه‌ی آن تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن افزایش می‌یابد، رادیکال‌های آزاد ممکن است در سلول‌ها و بافت‌هایی با منشأ داخلی یا منابع خارجی و یا متعاقب کاهش ظرفیت حمایتی تولید شوند. در هر صورت، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌تواند منشأ آسیب اکسیداتیو باشد که، در نتیجه عدم تعادل بین تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و سیستم آنتی‌اکسیدانی ایجاد شده و می‌تواند نقش کلیدی در بیماری‌زایی دیابت ایفا می‌کند [۲۰].

نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، نشان داد که پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازنی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس

لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و DNA وجود دارد، به طور معنی‌داری اکسیداسیون آن مواد اولیه را به تأخیر می‌اندازد یا متوقف می‌سازد. عملکرد اصلی آنتی‌اکسیدان‌ها حمایت بدن در برابر اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد آسیب رسان است. یکی از ترکیباتی که عملکرد آنتی‌اکسیدانی داشته و امروزه مورد توجه است پروبیوتیک‌ها می‌باشند [۱۱].

پروبیوتیک‌ها مانند میکروفلور عمل کرده و متابولیسم بدن و سیستم ایمنی را تعدیل می‌کنند. همچنین پژوهش‌ها نشان داده است که پروبیوتیک‌ها از طریق مهار پراکسیداسیون لیپیدی و تشکیل نیتریک اکساید در بافت پانکراس باعث کاهش آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو شده و مقادیر آنتی‌اکسیدان‌هایی از قبیل گلوتاتیون، گلوتاتیون پراکسیداز و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهند. همچنین کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از مصرف پروبیوتیک‌ها به دلیل اثر آن‌ها بر افزایش سطح گلوتاتیون احیا شده و مهار رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید می‌باشد [۲۸].

پروبیوتیک‌های مورد استفاده در این پژوهش لاکتوباسیلوس کازنی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس نیز احتمالاً با مسیرهای یاد شده با کاهش سطح گلوکز خون در موش‌های دیابتی باعث کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژنی و کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از آن می‌شوند.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که اثر مصرف پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازنی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس به صورت درمانی و بعد از ایجاد دیابت در موش صحرایی، اثرات تعدیل‌کننده بر گلوکز، انسولین، مالون دی‌آلدهید و سوپراکسید دیسموتاز را نشان داد. از آن جا که سویه‌های بومی باکتری‌های اسید لاکتیک دارای خصوصیات سازگاری با شرایط همان منطقه نیز می‌باشند و دارای پتانسیل مشخصی و اثر ضد میکروبی نیز می‌باشند، لذا شناسایی و جداسازی سویه‌های بومی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس هر منطقه، نقش بسیار مفیدی را در صنعت غذایی و سلامت افراد جامعه بازی می‌کند. اگر چه نتایج به دست آمده، نیازمند مطالعات دقیق‌تر و بررسی مکانیسم‌های مولکولی مختلف می‌باشد.

NADH (اکسیداز) یکی از آنزیم‌های مسئول در استرس اکسیداتیو گردد [۲۲].

عظیمی و همکاران در سال ۲۰۲۴ نشان دادند که پروبیوتیک‌های لاکتوباسیل کازنی شیرشتر سبب بهبود کاهش وزن و بهبود پروفایل لیپیدی، افزایش HDL کاهش LDL و نسبت LDL/HDL در موش‌های دیابت نوع یک شود [۲۳].

Scărlătescu و همکاران در سال ۲۰۲۴ در بررسی تأثیر پروبیوتیک بر مسیرهای استرس اکسیداتیو نشان دادند که مصرف پروبیوتیک در تنظیم استرس اکسیداتیو مغز و کبد در زمینه دیابت موثر بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی، اندازه‌گیری شده در گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک، افزایش سطح GSH و کاهش سطح MDA را در بافت‌های مغز و کبد، به طور قابل توجهی در مقایسه با گروه دیابتی و کاهش اکسیداسیون پروتئین و پراکسیداسیون لیپیدی نشان داده شد [۲۴].

شعبانی و همکاران در تحقیق خود در سال ۲۰۲۴ در گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک‌ها، کاهش قابل توجهی در سطوح پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در مقایسه با گروه دیابتی را گزارش دادند (۲۵). توانایی گونه‌های لاکتوباسیلوس در کاهش سطح گلوکز خون را می‌توان به تحریک جزائر لانگرهانس، بهبود حساسیت محیطی به باقی‌مانده‌ی انسولین، مهار آلفا گلوکوزیداز و یا خواص آنتی‌اکسیدانی دانست.

مسلمی و همکاران در سال ۲۰۲۰ گزارش دادند که تجویز سوسپانسیون لاکتوباسیلوس پلانترام به موش‌های صحرایی دیابتی شده به طور معنی‌داری باعث کاهش قندخون ناشتا، تری گلیسیرید، شرایط اکسیدانی تام و شاخص استرس اکسیداتیو نسبت به گروه دیابتی گردید [۲۶].

سال ۲۰۱۷ احمدیان و همکاران اثرات ضد دیابتی پروبیوتیک داهی (لاکتوباسیلوس کازنی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) را بر موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط جیره ی غنی از فروکتوز بررسی نمودند و نشان دادند که پروبیوتیک باعث کاهش سطح قند خون و تحمل گلوکز می‌شود [۲۷].

آنتی‌اکسیدان به عنوان ماده ای تعریف می‌شود که وقتی در غلظت کم در مقایسه با مواد اولیه قابل اکسید شدن (پروتئین‌ها،

management with antioxidants. Archives of Physiology and Biochemistry. 2024; 130(6): 616-641.

- [9] Zhao Y, Li M, Wang Y, Geng R, Fang J, Liu Q, Kang SG, Zeng WC, Huang K, Tong T. Understanding the mechanism underlying the anti-diabetic effect of dietary component: a focus on gut microbiota. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2023; 63(25): 7378-7398.
- [10] Bajinka O, Tan Y, Darboe A, Ighaede-Edwards IG, Abdelhalim KA. The gut microbiota pathway mechanisms of diabetes. AMB Express. 2023; 13(1): 16.
- [11] Li X, Xia Y, Song X, Xiong Z, Ai L, Wang G. Probiotics intervention for type 2 diabetes mellitus therapy: a review from proposed mechanisms to future prospects. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2024; 1: 1-9.
- [12] Wu X, Zhao L, Zhang Y, Li K, Yang J. The role and mechanism of the gut microbiota in the development and treatment of diabetic kidney disease. Frontiers in Physiology. 2023; 14: 1166685.
- [13] Shen X, Ma C, Yang Y, Liu X, Wang B, Wang Y, Zhang G, Bian X, Zhang N. The Role and Mechanism of Probiotics Supplementation in Blood Glucose Regulation: A Review. Foods. 2024; 13(17): 2719.
- [14] Adeleye O, Ajala T, Adekoya OA, Adeleye AI. Effective Dose Regimen of STZ for STZ-induced Diabetes in a Rat Model. Iranian Journal of Veterinary Medicine. 2024; 18(3), 377-386.
- [15] Rad L, Keshtmand Z, Mir Noorollahi SM. The effect of probiotic mixture on the gut-brain axis and immune response in male rats infected with Salmonella Typhimurium. Journal of Veterinary Research. 2024; 79(4): 249-263.
- [16] Omoruyi F, Sparks J, Stennett D, Dilworth L. Superoxide dismutase as a measure of antioxidant status and its application to diabetes. In Diabetes. 2020; 409-417.
- [17] Sincihu Y, Lusno MF, Mulyasari TM, Elias SM, Sudiana IK, Kusumastuti K, Sulistyorini L, Keman S. Wistar rats hippocampal neurons response to blood low-density polyethylene microplastics: a pathway analysis of SOD, CAT, MDA, 8-OHdG expression in hippocampal neurons and blood serum A β 42 levels. Neuropsychiatric disease and treatment. 2023; 31: 73-83.
- [18] Mohamed NA, Ithmil MT, Elkady AI, Abdel Salam S. Tauroursodeoxycholic Acid (TUDCA) Relieves Streptozotocin (STZ)-Induced Diabetic Rat Model via Modulation of

قدردانی

نویسنده این مقاله از همکاران مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی و از شرکت پروبیوتیک تک ژن تشکر و قدردانی می‌نماید.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسنده بیان نشده است.

منابع

- [1] Elnahas SM, Mansour HA, El- Sawi MR, Abou- El- Naga AM. Therapeutic effect of Momordica charantia on cardiomyopathy in a diabetic maternal rat model. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology. 2024; 341(9): 977-990.
- [2] Dab H, Ben Hamed S, Hodroj W, Zourgui L. Combined diabetes and chronic stress exacerbates cytokine production and oxidative stress in rat liver and kidney. Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2023; 37(1): 250-259.
- [3] Pérez-Villalobos MC, Barba-González A, García-Carrillo N, Muñoz-Ortega MH, Sánchez-Alemán E, Ávila-Blanco ME, Morones-Gamboa JC, Ventura-Juárez J, Martínez-Hernández SL. Nephroprotective effect of pioglitazone in a Wistar rat model of adenine-induced chronic kidney disease. Experimental and Therapeutic Medicine. 2024; 28(4): 392-402.
- [4] Palygin O, Spires D, Levchenko V, Bohovyk R, Fedoriuk M, Klemens CA, Sykes O, Bukowy JD, Cowley Jr AW, Lazar J, Ilatovskaya DV. Progression of diabetic kidney disease in T2DN rats. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 2019; 317(6): F1450-1461
- [5] Emmanuel Adeleye O, Ajala T, Adekoya OA, Adeleye AI. Effective Dose Regimen of STZ for STZ-induced Diabetes in a Rat Model. Iranian Journal of Veterinary Medicine 2024; 18(3): 377-386.
- [6] Ghasemi A, Jeddi S. Streptozotocin as a tool for induction of rat models of diabetes: A practical guide. EXCLI journal. 2023; 22: 274.
- [7] Wan Chik M, Ramli NA, Mohamad Nor Hazalin NA, Surindar Singh GK. Streptozotocin mechanisms and its role in rodent models for Alzheimer's disease. Toxin Reviews. 2023; 42(1): 491-502.
- [8] Singh H, Singh R, Singh A, Singh H, Singh G, Kaur S, Singh B. Role of oxidative stress in diabetes-induced complications and their

- Lipotoxicity, Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25(13):6922. <https://doi.org/10.3390/ijms25136922>
- [19] Urcar Gelen S, Ozkanlar S, Gedikli S, Atasever M. The investigation of the effects of monosodium glutamate on healthy rats and rats with STZ- induced diabetes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2024 Jan; 38(1): e23612.
- [20] Darenskaya M, Kolesnikov S, Semenova N, Kolesnikova L. Diabetic nephropathy: significance of determining oxidative stress and opportunities for antioxidant therapies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(15): 12378.
- [21] Dinić S, Arambašić Jovanović J, Uskoković A, Mihailović M, Grdović N, Tolić A, Rajić J, Đorđević M, Vidaković M. Oxidative stress-mediated beta cell death and dysfunction as a target for diabetes management. *Frontiers in endocrinology*. 2022; 13: 1006376.
- [22] González P, Lozano P, Ros G, Solano F. Hyperglycemia and oxidative stress: An integral, updated and critical overview of their metabolic interconnections. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(11): 9352.
- [23] Azimi Abarghoei S, Raisi M, Sadeghi Nejad S, Mosaddegh MH. Determining the Effectiveness of Lactobacillus Casei in Camel Milk on Lipid and Sugar Parameters in Type 1 Diabetic Rats. *SSU_Journals*. 2024; 32(3): 7686-7694.
- [24] Scărlătescu AI, Voicu SN, Pițuru M, Apetroaei M, velescu BȘ, Udeanu DI, Nedeia MI, Arsene AL. Probiotic effects on oxidative stress pathways in diabetes. *Farmacia*. 2024; 72(6).
- [25] Shabani M, Hassanpour E, Aghighi F, Mohammadifar M, Bahmani F, Talaei SA. A Probiotic Mixture Decreases Neuropathy and Oxidative Stress Markers in Diabetic Rats. *OBM Neurobiology*. 2024; 8(3): 1-8.
- [26] Mosallami S, Parsaeimehr M, Ahmadi hamedani M, Jebelli javan A, Moezifar M. Effect of probiotic Lactobacillus plantarum ktb2 on serum total oxidant and antioxidant, oxidative stress index and some biochemical parameters in induced diabetic rats. *Scientific-research iranian veterinary journal*. 2020; 16(3): 94-105.
- [27] Ahmadian F, Ejtahed H S, Javadi M, Razmpoosh E, Mirmiran P, Azizir F. The Effects of Probiotic Supplementation on Glycemic Control, Insulin Resistance and Inflammatory Biomarkers of Type 2 Diabetic Patients. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2017; 19 (2):72-83.
- [28] Zhang Z, Bai L, Guan M, Zhou X, Liang X, Lv Y, Yi H, Zhou H, Liu T, Gong P, Sun J. Potential probiotics Lactobacillus casei K11 combined with plant extracts reduce markers of type 2 diabetes mellitus in mice. *Journal of Applied Microbiology*. 2021; 131(4): 1970-1982.