ارزیابی اثرات تغذیه‌ای پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی به همراه پری‌بیوتیک رافتیلوز بر رشد و آنزیم‌های کبدی موش

بیان سیدی: کارشناس ارشد زیست شناسی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. bayan.seyedi@gmail.com
دکتر رضا حیدری: استاد و متخصص بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. r.heidari@mail.urmia.ac.ir
***دکتر امیر توکمه‌چی:** استادیار و متخصص میکروبیولوژی، گروه پاتوبیولوی و کنترل کیفی، پژوهشکده آرتمیا و آبزیان، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (*مولف مسئول). a.tukmachi@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۷/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: هدف از بررسی حاضر ارزیابی اثرات تغذیه‌ای دو پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی (ل. کازئی) و لاکتوباسیلوس پاراکازئی (ل. پاراکازئی) با پری‌بیوتیک رافتیلوز بر رشد و مقدار آنزیم‌های کبدی (ALP، ALT و AST) سرم موش بود.

روش کار: این مطالعه از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و برای این منظور ۴۸ سر موش نر ویستار (با میانگین وزنی ۲۵±۱۷۵ گرم) به طور تصادفی در چهار گروه آزمایشی هر کدام با سه تکرار تقسیم شدند. گروه اول به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و گروه دوم تا چهارم به ترتیب با ترکیب مساوی از ل. کازئی و ل. پاراکازئی (۱۰۸×۵ واحد تشکیل دهنده پرگنه در هر میلی لیتر)، رافتیلوز (۵٪ غذای مصرفی) و مخلوط پروبیوتیک‌ها با رافتیلوز به عنوان سین‌بیوتیک در همان مقادیر به مدت ۴ هفته و روزانه یک بار گاواژ شدند. سپس به مدت ۲ هفته دیگر تغذیه عادی داشتند. برای سنجش شاخص‌های رشد نمونه برداری در روزهای صفر و ۳۰ و برای اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی نمونه برداری در روزهای ۳۰ و ۴۵ انجام شد. داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه به کمک نرم افزار SPSS تحلیل شد.

یافته ها: نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که تغذیه با لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی به همراه رافتیلوز به طور معنی داری در سطح $p<۰/۰۵$ شاخص‌های رشد موش را تغییر نداد. همچنین نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌های کبدی تحت تاثیر پروبیوتیک‌ها و رافتیلوز به طور مستقل تغییر می‌کند و مقدار آنزیم ALT در موش‌هایی گاواژ شده با پروبیوتیک‌ها در روز ۳۰ مطالعه به طور معنی داری در مقایسه با گروه شاهد افزایش داشت ($p=۰/۰۳۲$). مقادیر دو آنزیم ALP و AST در گروه‌های مورد مطالعه هیچگونه اختلاف آماری معنی داری ($p<۰/۰۵$) نشان نداد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که افزودن لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی به همراه رافتیلوز به عنوان پروبیوتیک تاثیری بر رشد موش نداشته اما می‌تواند سطح آنزیم ALT تحت تاثیر پروبیوتیک‌ها افزایش پیدا کند. لازم به ذکر است که جهت کسب نتایج بهتر انجام مطالعات بیشتر پیرامون تغذیه با پروبیوتیک و پربیوتیک در موش ضروری می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: موش، پروبیوتیک، پری‌بیوتیک، رشد، آنزیم‌های کبدی.

مقدمه

شروع زندگی در همه موجودات با روده نسبتاً سالمی آغاز می شود. عواملی مانند عادات غذایی نامنظم، استفاده نادرست از آنتی‌بیوتیک‌ها، استرس، آلودگی محیطی و غیره، ترکیب و فعالیت متابولیکی فلور دستگاه گوارش را تحت تأثیر قرار می‌دهند. بنابراین سبب عدم تعادل فلور دستگاه گوارش می شوند و با افزایش میکروارگانیسم های مخرب در برابر ارگانیسم‌های مفید موجودات را مستعد بیماری می‌سازند (۱).

به کارگیری پروبیوتیک‌ها در پیشگیری از بیماری‌ها و بهبود وضعیت سلامتی انسان و دام پیشینه ای چندین هزار ساله دارد. پروبیوتیک ها یا مواد حیات بخش در مقابل آنتی‌بیوتیک ها یا ترکیبات پادزیست قرار می‌گیرند (۲). امروزه تحقیق در زمینه تولید فرآورده های پروبیوتیک به علت خواص تغذیه‌ای و درمانی روند رو به رشدی را دنبال می‌کند و تلاش برای قرار دادن پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها به عنوان مکمل در رژیم غذایی روزانه افراد صورت می‌گیرد.

پروبیوتیک به صورت "مکمل غذایی میکروبی زنده" تعریف شده است و درصورت مصرف در انسان یا حیوان، با اثر بر تعادل فلورمیکروبی روده اثرات مفیدی بر سلامتی میزبان دارد (۲). اثرات مفید پروبیوتیک‌ها عبارتند از: کنترل اسهال (۳)، کاهش عدم تحمل لاکتوز (۴)، مهار رشد عوامل بیماری‌زای روده (۵)، جلوگیری از بیماری‌های قلبی و عروقی با کاهش لیپیدها و کلسترول سرم

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-15]

(۶)، افزایش پاسخ ایمنی (۷)، فعالیت ضد سرطانی (۸) و کاهش علائم آلرژی (۹). پری بیوتیک‌ها ترکیبات غذایی غیرقابل هضمی هستند که با تحریک انتخابی رشد و فعالیت یک یا تعداد کمی از باکتری های روده بزرگ اثرات مفیدی بر میزبان دارند و می توانند سلامتی میزبان را بهبود دهند (۱۰). پری بیوتیک ها با کاهش باکتری های بیماری زای روده، تحریک سیستم ایمنی و تحریک ترشح آنزیم های گوارشی از معده، پانکراس و موکوس روده، سبب افزایش در هضم و جذب مواد مغذی می‌شوند (۱۱).

ترکیب پروبیوتیک و پری‌بیوتیک که سین‌بیوتیک نامیده می‌شود می‌تواند اثر سینرژیستی در افزایش رشد باکتری‌های مفید کولون و نیز بقا و رشد سویه های پروبیوتیک که به تازگی اضافه شده‌اند، داشته باشد (۱۲). مزایای اصلی سین بیوتیک مانند مقاومت به آلودگی باکتریایی دستگاه گوارش، فعالیت آنتی‌میکروبی و بهبود سیستم ایمنی منجر به گسترش محصولات سین‌بیوتیک شده است (۱۳). اثرات پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و سین‌بیوتیک بر آنزیم‌های سرم و عملکرد رشد در موارد متعددی خصوصاً در ماکیان گزارش شده است. Gruzauskas و همکاران (۱۴) نشان دادند که پروبیوتیک و پری بیوتیک به طور شاخصی سلامت عمومی ماکیان را ارتقاء می‌بخشند.

Vahdatpour و همکاران (۱۵) و Hassaan و همکاران (۱۶) گزارش کردند که غلظت طبیعی آنزیم های سرم توسط عوامل غیرطبیعی تغییر می‌کند. فعالیت آنزیم های کبدی سرم (ALP، ALT و AST) برای ارزیابی عملکرد کبد مورد استفاده قرار می گیرد و افزایش در فعالیت آن ها مربوط به نابودی هپاتوسیت ها یا آسیب کبدی صرف نظر از علت آن است (۱۷). Scoll و همکاران (۱۸) گزارش کردند که ALT، AST، LDH و GGT معمولاً زمانی در سرم ظاهر می‌شوند که آسیب کبد و بافت ماهیچه به علت استرس فراوان ایجاد شود. اگرچه دلایل مختلفی برای تغییر غلظت و فعالیت آنزیم‌های خون وجود دارد، بسیاری از آنزیم ها تغییرات فیزیولوژیک مهم ناشی از سن، جنس، دوره های جنسی، تغذیه، فعالیت بدنی و غیره را نشان می دهند (۱۹). Rahman و همکاران (۱۹) نشان دادند که سطوح آنزیم های کبدی سرم تحت تاثیر پروبیوتیک تغییر می‌کند. Ziaei و همکاران (۲۰) نیز گزارش کردند که پروبیوتیک و پری بیوتیک غلظت آنزیم های کبدی را تغییر می‌دهند.

بر اساس موارد ذکر شده هدف از تحقیق حاضر ارزیابی اثرات تغذیه‌ای پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی به همراه پری‌بیوتیک رافتیلوز بر رشد و آنزیم‌های کبدی موش بود.

روش کار

این مطالعه از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و از دی ماه ۱۳۹۰ تا اردیبهشت ماه ۱۳۹۱ در گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه طی مراحل زیر انجام شد.

تهیه و کشت پروبیوتیک‌ها

باکتری‌های مورد استفاده در این بررسی از آزمایشگاه میکروبیولوژی پژوهشکده آرتمیا و آبزیان، دانشگاه ارومیه تهیه شدند (۲۱). جهت آماده سازی سوسپانسیون باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی، هر کدام از باکتری ها به طور جداگانه در محیط آب گوشت MRS (De Man, Rogosa and Sharpe) به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ سانتی گراد و شرایط بی‌هوازی (در حضور پنج درصد گاز CO_2) و در انکوباتور شیکردار کشت داده شدند. پس از رشد، نمونه ها با دور ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ سانتی گراد سانتریفیوژ شده و رسوب حاصله سه مرتبه با سرم فیزیولوژی استریل شتشو داده شده و در نهایت به صورت سوسپانسیون درآمد. سپس به کمک لوله های استاندارد مک فارلند غلظت آن ها در سرم فیزیولوژی استریل تنظیم شد. همچنین جهت اطمینان از صحت تراکم باکتری ها شمارش به روش زنده (Viable Count) نیز انجام گرفت.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-15]

تهیه پری‌بیوتیک

پری‌بیوتیک مورد استفاده در این آزمایش رافتیلوز (پی- ۹۵-Raftilose P95) نام داشته که به صورت فروکتان های خطی(۱→۲)-β با درجه پلی‌مریزاسیون ۸-۲ درصد می‌باشد. مقدار فروکتان های تضمین شده توسط کارخانه ۹۵٪ و شامل گلوکز، فروکتوز و ساکارز بود. این پری بیوتیک از شرکت اورافتی (Orafti -بلژیک) خریداری شد. Tze در سال ۲۰۰۶ نشان داد که رافتیلوز دارای خاصیت پری‌بیوتیکی است (۲۲). جهت تهیه رافتیلوز ۵٪، مقدار ۵ گرم پودر رافتیلوز در ۱۰۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل حل شد.

تهیه حیوانات و طراحی آزمایش

در این تحقیق تعداد ۴۸ سر موش نر آلبینو نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵±۱۷۵ گرم از مؤسسه پاستور تهران خریداری و تحت شرایط معمول آزمایشگاهی (۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند و در طول شبانه روز به طور مداوم به آب و غذای استاندارد (جدول ۱) دسترسی داشتند. پس از سازگاری با شرایط آزمایشگاهی، حیوانات به طور تصادفی در چهار گروه هر کدام با سه تکرار تقسیم شدند، طوری که در هر تکرار تعداد چهار سر موش قرار داشت. گروه اول به عنوان شاهد با سرم فیزیولوژی استریل (غذای بدون پروبیوتیک و پری‌بیوتیک) تغذیه شدند.

جدول ۱. آنالیز تقریبی غذای استاندارد مورد استفاده در این مطالعه جهت تغذیه موش‌ها.

ردیف	جزء	مقدار
۱	انرژی خالص	۱۰۰۰-۱۲۰۰ Cal/kg کالری بر کیلوگرم
۲	پروتئین خام	۱۴-۱۳ درصد
۳	کلیسم	۱-۰/۱ درصد
۴	فسفر	۰/۵-۰/۴ درصد
۵	فیبر خام	۱۲-۱۰ درصد
۶	ماده خشک	۸۸ درصد

گروه دوم با ترکیب مساوی از لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی (۵×۱۰۸ CFU/ml)، گروه سوم با پری بیوتیک رافتیلوز (۵٪ غذای مصرفی) و گروه چهارم با مخلوط پروبیوتیک ها و رافتیلوز به عنوان سین‌بیوتیک با همان مقادیر (۱/۵میلی‌لیتر) به مدت چهار هفته و روزانه یک بار گاواژ شدند. سپس به مدت دو هفته تغذیه عادی داشتند بدون اینکه پروبیوتیک یا پری بیوتیکی گاواژ شوند.

نمونه برداری

در ابتدا به منظور زیست سنجی در روزهای صفر و ۳۰ موش ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم وزن شدند و شاخص های رشد نظیر وزن نهایی، وزن به دست آمده، فاکتور وضعیت (Condition Factor) و نرخ رشد ویژه (Specific Growth Rate) محاسبه شد (۲۳). برای محاسبه فاکتور وضعیت و نرخ رشد ویژه از روابط زیر استفاده گردید:

۱۰۰ × [۳(طول نهایی) ÷ وزن نهایی] = فاکتور وضعیت

طول دوره ÷ (وزن اولیه - وزن نهایی) لگاریتم × ۱۰۰= نرخ رشد ویژه

در نهایت به منظور سنجش آنزیم‌های کبدی خون گیری در روزهای ۳۰ و ۴۵ مطالعه انجام شد. موش ها ۱۲ ساعت قبل از خون گیری قطع غذا شدند. پس از بی هوشی با اتر با استفاده از سرنگ ۵ میلی لیتری از قلب حیوان خون گیری شد. نمونه های خون یک ساعت در دمای اتاق قرار داده شده و بعد از تشکیل لخته با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سرم آن‌ها جدا شد. غلظت آنزیم‌های کبدی آلانین آمینو ترانسفراز (Alanine Aminotransferase-ALT)، آسپارژین آمینو تراسفراز (Aspartate -AST Aminotransferase) و آلکالین فسفاتاز (ALP- Alkaline Phosphatase) موجود در نمونه‌های سرم با کیت های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Camspec M330, UK) تعیین شد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-15]

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از محاسبه شاخص‌های رشد و آنزیم‌های کبدی گروه‌های مورد مطالعه از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One Way Analysis of -ANOVA Variance)، نرم افزار SPSS (نسخه ۱۸) و آزمون توکی(Tukey's Test) (آزمون اختلاف حقیقی که به طور مخفف HSD نامیده می‌شود) استفاده شد. در تمام بررسی‌ها سطح معنی‌دار آزمون‌ها $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تأثیر جیره‌های آزمایشی بر شاخص‌های رشد در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که شاخص‌های رشد (وزن نهایی، وزن به دست آمده، فاکتور وضعیت و نرخ رشد ویژه) در موش های گاواژ شده با مخلوط پروبیوتیک و پری‌بیوتیک (سین‌بیوتیک) نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۵$ نداشت. همچنین شاخص‌های رشد در موش های گاواژ شده با پروبیوتیک بیشتر از پری‌بیوتیک و گروه شاهد بود.

جدول ۳ تأثیر جیره های آزمایشی بر غلظت آنزیم‌های کبدی موش را نشان می‌دهد. بر این اساس در روز ۳۰ مقدار آنزیم AST در گروه‌های تیمار شده با پروبیوتیک و پری بیوتیک در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت، اما در گروه سین‌بیوتیک نسبت به گروه شاهد کاهش پیدا کرد. در روز ۴۵ نیز مقدار این آنزیم در گروه های تیمار شده نسبت به گروه شاهد کاهش پیدا کرد که این کاهش در گروه پروبیوتیک بیشتر از سایر گروه‌ها بود. همچنین مقدار این آنزیم در گروه سین‌بیوتیک کمتر از گروه شاهد گزارش گردید. در روز ۴۵ هم اختلاف آماری معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در غلظت آنزیم AST بین گروه‌ها دیده نشد.

در روزهای ۳۰ و ۴۵ غلظت آنزیم ALT در گروه‌های تیمار شده با پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و سین بیوتیک بیشتر از شاهد بود. مقدار افزایش این آنزیم در روز ۳۰ در تیمار پروبیوتیک بیشتر از سایرین بوده و اختلاف آماری معنی‌داری (($p=۰/۰۳۲$)) با همه گروه‌ها داشت. این افزایش غلظت در روز ۴۵ هم در گروه پروبیوتیک بیشتر از بقیه تیمارها بود ولی اختلاف آماری معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بین گروه‌ها مشاهده نشد.

نتایج مربوط به مقدار آنزیم ALP سرم نشان داد که مقدار آنزیم در روزهای ۳۰ و ۴۵ در گروه های تیمار شده نسبت به گروه شاهد کاهش پیدا کرد. در

جدول ۲. نتایج حاصل از تأثیر تغذیه‌ای پروبیوتیک و پری‌بیوتیک برشاخص‌های رشد موش در طول مطالعه

تیمارها	وزن اولیه (گرم)	وزن روز ۳۰ (گرم)	وزن نهایی (گرم)	وزن به دست آمده (٪)	فاکتور وضعیت (٪)	نرخ رشد ویژه (٪)
پروبیوتیک	۱۷۵ ± ۲۴^{a}	۲۶۵ ± ۳۲^{a}	۹۰ ± ۴۰^{a}	۵۵ ± ۲۸^{a}	$۱/۳۵ \pm ۰/۰۹^{a}$	$۳/۲۴ \pm ۱^{a}$
پری‌بیوتیک	۱۷۶ ± ۲۳^{a}	۲۵۷ ± ۲۹^{a}	۸۱ ± ۲۶^{a}	۴۸ ± ۱۹^{a}	$۱/۲۹ \pm ۰/۰۷^{a}$	$۳/۲۴ \pm ۰/۹۹^{a}$
سین‌بیوتیک	۱۶۹ ± ۲۳^{a}	۲۶۷ ± ۳۴^{a}	۹۸ ± ۳۱^{a}	۶۲ ± ۲۱^{a}	$۱/۳۵ \pm ۰/۰۹^{a}$	$۳/۲۴ \pm ۱/۱^{a}$
شاهد	۱۸۰ ± ۲۱^{a}	۲۵۶ ± ۲۰^{a}	۷۶ ± ۲۸^{a}	۴۴ ± ۲۰^{a}	$۱/۲۹ \pm ۰/۰۸^{a}$	$۳/۲۴ \pm ۱/۳^{a}$

* داده‌ها به صورت Mean±S.D. نشان داده شده‌اند (n=۶).

*حروف غیر یکسان در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ($p<۰/۰۵$) می‌باشد.

جدول ۳. تأثیر جیره‌های آزمایشی بر غلظت (U/l) آنزیم‌های کبدی سرم موش گزارش شده است

تیمارها	ALT		AST		ALP	
	روز ۳۰	روز ۴۵	روز ۳۰	روز ۴۵	روز ۳۰	روز ۴۵
پروبیوتیک	$۲۵/۱۹ \pm ۲/۴۶^{a}$	$۲۱/۵۳ \pm ۶/۶۷^{a}$	$۱۹۹/۲۹ \pm ۱۵/۴۷^{a}$	$۱۶۱/۱۸ \pm ۴۸/۲۲^{a}$	$۱۲۲/۲۹ \pm ۳۰/۵۹^{a}$	$۱۰۸/۵۱ \pm ۲۵/۰۹^{a}$
پری‌بیوتیک	$۱۵/۴۴ \pm ۲/۶۳^{b}$	$۱۶/۷۵ \pm ۳/۰۱^{a}$	$۲۰۳/۹۵ \pm ۸۳/۳۷^{a}$	$۱۸۱/۴۲ \pm ۳۵/۷۷^{a}$	$۱۲۶/۷۰ \pm ۳۵/۳۳^{a}$	$۱۱۶/۲۳ \pm ۳۸/۵۲^{a}$
سین بیوتیک	$۱۷/۱۳ \pm ۲/۸۳^{b}$	$۱۶/۹۶ \pm ۳/۴۵^{a}$	$۱۶۴/۷۵ \pm ۶/۶۸^{a}$	$۱۶۵/۲۵ \pm ۲۵/۹۰^{a}$	$۱۳۵/۹۷ \pm ۱۰/۴۱^{a}$	$۱۰۵/۳۷ \pm ۱۸/۰۱^{a}$
شاهد	$۱۴/۴۸ \pm ۳/۴۵^{b}$	$۱۶/۷۰ \pm ۳/۰۸^{a}$	$۱۹۸/۱۰ \pm ۳۲/۳۵^{a}$	$۱۸۷/۵۸ \pm ۲۱/۸۳^{a}$	$۱۴۷/۹۹ \pm ۴۷/۷۴^{a}$	$۱۳۲/۹۹ \pm ۲۲/۵۲^{a}$

* داده‌ها به صورت Mean±S.D. نشان داده شده‌اند (n=۶).

*حروف غیر یکسان در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ($p<۰/۰۵$) می‌باشد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-15]

روز ۳۰ بیشترین کاهش در مقدار آنزیم مربوط به گروه پروبیوتیک و در روز ۴۵ مربوط به گروه سین‌بیوتیک بود. و هیچگونه اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۵$ مشاهده نشد.

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که مصرف پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی به همراه پری‌بیوتیک رافتیلوز نمی تواند شاخص های رشد موش را به صورت معنی داری افزایش دهد. در توافق با نتایج به‌دست آمده، Cakir و همکاران (۲۴) بهبود معنی‌داری را در افزایش وزن بدن بلدرچین ژاپنی در اثر اضافه کردن مکمل سین‌بیوتیک (بایومین ایمبو-Biomin IMBO) مشاهده نکردند. این محققین علت را در وجود شرایط غیر طبیعی و پر تنش در طی دوره پرورش گزارش کردند و اظهار داشتند که در این شرایط میزان تأثیرگذاری این مکمل‌ها حداقل می‌باشد.

همچنین گزارش شده که استفاده از پروبیوتیک و پری بیوتیک در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی تأثیر قابل توجهی بر عملکرد رشد آن‌ها ندارد(۲۹-۲۶). از طرفی Ashayerizade و همکاران (۲۹) مشاهده کردند که ضریب رشد و نرخ رشد ویژه در جوجه‌های تغذیه شده با پری‌بیوتیک و سین‌بیوتیک در ابتدا و کل دوره تغذیه بیشتر از گروه‌های کنترل و تغذیه شده با پروبیوتیک و آنتی بیوتیک بود. مغایرت تحقیقات گزارش شده می‌تواند ناشی از تفاوت نوع پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها، شرایط محیطی و مدیریت در آزمایش‌های مختلف باشد. در ضمن این پژوهشگران از پروبیوتیک‌های Lactobacillus acidophilus، Bifidobacterium bifidum و Entrvococcus faecium با نام تجاری Primalac و از پری‌بیوتیک گلوکان (مستخرج از دیواره سلولی مخمر Saccharomyces cerevisiae) با نام تجاری Biolex-MB 40 در مطالعه خود استفاده کردند (۳۰).

یافته‌های به دست آمده نشان می‌دهند که مصرف سین‌بیوتیک همانند آنتی‌بیوتیک یک اثر مثبت بر افزایش وزن بدن در مقایسه با گروه شاهد دارد. این ممکن است به دلیل همکاری پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها و به دنبال آن عمل تخمیر پری‌بیوتیک‌ها توسط باکتری‌های لاکتیک اسید در مسیر معده‌ای-روده‌ای و تولید برخی اسیدها توسط این گروه از باکتری‌ها باشد که pH مسیر ذکر شده را بیشتر کاهش دهد (۸). کاهش pH در کنترل جمعیت باکتری‌های پاتوژن موثر است. در جریان آالودگی به این باکتری‌های بیماری‌زا جمعیت لنفوسیت‌ها نیز برای از بین بردن آن ها افزایش یافته و به دنبال التهاب، ضخامت لایه ماهیچه‌ای افزایش می‌یابد (۲۶).

نتایج مربوط به غلظت آنزیم های کبدی نشان داد که فعالیت آن ها تحت تأثیر پروبیوتیک‌ها و رافتیلوز به طور جداگانه تغییر می کند. تغذیه با پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و سین‌بیوتیک غلظت آنزیم ALT را در مقایسه با شاهد افزایش می دهد که این افزایش در گروه پروبیوتیک نسبت به سایر گروه ها معنی دار ($p<۰/۰۵$) بود. در آزمایش انجام شده توسط Vahdatpour و همکاران (۳۱) تغذیه با پروبیوتیک پروتکسین(Protexin)، پری‌بیوتیک فرماکتو(Fermacto) و سین بیوتیک (پروتکسین+ فرماکتو) در بلدرچین ژاپنی، سبب کاهش غلظت آنزیم ALT در مقایسه با گروه کنترل شد که این کاهش در گروه های سین بیوتیک و پروبیوتیک نسبت به شاهد معنی دار ($p<۰/۰۵$) بود. همچنین Ziaie و همکاران (۲۰) نشان دادند که غلظت آنزیم ALT در جوجه‌های تغذیه شده با پروبیوتیک پروتکسین و پری‌بیوتیک ایمنووال (Immnowall) کاهش معنی داری ($p<۰/۰۵$) نسبت به گروه شاهد داشت.

با توجه به اینکه افزایش غلظت این آنزیم می‌تواند نشانه آسیب کبدی و بافت ماهیچه‌ای باشد اما بررسی‌های هیستوپاتولوژیک این بافت‌ها هیچ گونه عارضه‌ای را مشخص نکرد. در ضمن در بررسی منابع علمی دلیل قانع کننده‌ای برای افزایش این آنزیم پیدا نشد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مقدار آنزیم AST سرم در گروه پروبیوتیک و پری بیوتیک نسبت به شاهد کاهش یافت، اما در گروه سین بیوتیک نسبت به

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-15]

شـاهد افـزایش نشـان داد ولـی اخـتلاف آمـاری معنی داری (p<۰/۰۵) در غلظـت ایـن آنـزیم بـین گروه‌ها دیده نشد.

در این مطالعه مقدار آنـزیم ALP در گـروه‌هـای تیمار شده نسبت به گروه شاهد کاهش پیـدا کـرد امـا اخـتلاف آمـاری معنـی‌داری (p<۰/۰۵) بـین گروه ها دیده نشد. در روز ۳۰ بیشترین کـاهش در مقدار آنزیم مربوط بـه گـروه پروبیوتیـک و در روز ۴۵ مربوط به گروه سـین بیوتیـک بـود. Brenes و همکاران (۳۲) گزارش کردند که کاهش فسفر قابل دسترس جیره باعـث افـزایش غلظـت ALP سـرم می گردد. مقدار این آنزیم در آسیب های کبدی بالا می رود و سبب کاهش در ترشـح صـفرا مـی گـردد (۲۰).

در آزمایش انجام شده توسـط Rishi و همکـاران (۳۳) مقـدار AST و ALT در سـرم مـوش‌هـای تغذیه شده با پروبیوتیـک و سـین‌بیوتیـک مشـابه گـروه کنتـرل بـود، امـا در گـروه تغذیـه شـده بـا پربیوتیک اینولین مقدار AST افزایش معنـی داری نشان داد (p<۰/۰۵) که ممکن است ناشی از پاسخ غیـر اختصاصـی میزبـان بـه اینـولین باشـد. علـت افـزایش AST در مقایسـه بـا ALT ناشـی از ایـن واقعیت است که AST به طور طبیعی در بافت‌های مختلفی یافت می‌شود و سطح سرمی آن بلافاصـله به هنگام ایجاد آسیب در هر کدام از ایـن بافـت‌هـا افزایش می‌یابد (۳۳).

Yalcinkaya و همکاران (۳۴) گزارش کردند که تغذیـه بـا الیگوسـاکارید مانـان میـزان AST (p<۰/۰۵) و ALT (p<۰/۰۱) را بـه طـور قابـل تـوجهی در سـرم جوجـه‌هـای گوشـتی کـاهش می‌دهد. نتـایج Rahman و همکـاران (۱۹) نشـان داد پروبیوتیـک در خـوراک جوجـه‌هـای گوشـتی منجر به کاهش غلظت آنـزیم هـای AST، ALT و ALP سرم در مقایسـه بـا شـاهد شـد (p<۰/۰۵). همچنین پروبیوتیک‌ها با کاهش در فعالیـت آنـزیم اوره آز باکتریایی، جذب روده‌ای آمونیاک و سموم و کـاهش تـنش‌هـای اکسـیداتیو ناشـی از جـذب آمونیاک موجب شده تا عملکـرد کبـد بهبـود یابـد (۳۵). احتمالاً کاهش سطح سرمی آنزیم های کبـد در جیره‌های حاوی جایگزین‌های آنتی‌بیوتیـک بـه این دلیل است که آن‌ها با ایجـاد تعـادل روده ای و افزایش در قابلیـت هضـم مـواد مغـذی و افـزایش پاسخ ایمنی موجـب کـاهش تـنش هـای ناشـی از ترکیبات ضد مغـذی موجـود در خـوراک، کـاهش توکسین‌های روده‌ای و شرایط محیطی و بیماری‌ها بر کبد شده و بنابراین با افزایش در کارکردهای آن ها سطح سرمی این آنزیم‌ها کاهش می‌یابد (۳۶).

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیـق مـی‌تـوان نتیجـه گرفـت کـه افـزودن پروبییوتیـک‌هـای لاکتوباسیلوس کـازئی و لاکتوباسـیلوس پاراکـازئی جدا شده از روده مـاهی کپـور معمـولی بـه جیـره غـذایی رت‌هـای سـالم، تـاثیری معنـی داری بـر شاخص‌های رشد مـوش نـدارد. همچنـین مقـادیر آنـزیم‌هـای کبـدی مـی‌تواننـد در اثـر تغذیـه بـا پروبیوتیک و پریبیوتیک تغییر یابد. بر اساس نتایج بدست آمده مشخص شد کـه در بـین آنـزیم‌هـای کبدی اندازه‌گیری شده فقـط میـزان آنـزیم ALT سرم در اثر تغذیه با پروبیوتیک‌ها افزایش می‌یابد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خـود را از پژوهشکده آرتمیا و آبزیـان و دانشـکده علـوم دانشگاه ارومیه به خاطر حمایـت‌هـای مـالی ابـراز می‌دارند.

منابع

1. Cakir S, Midilli M, Erol H, Simsek N, Cinar M, Altintas A, et al. Use of combined probiotic-prebiotic, organic acid and avilamycin in diets of Japanese quails. Revue De Med Vet. 2008;159:565-9.

2. Fuller R. Probiotics in man and animals. J App Bacteriol. 1987;66:365-78.

3. Reddy NR, Roth SM, Eigel WN, Pierson MD. Food and food ingredients for prevention of diarrhea diseases in children in developing countries. J Food Protec. 1998;51:66-75.

4. Fonden R, Mogensan G, Tanaka R, Salminen S. Effect of culture containing dairy products on intestinal micro flora, human nutrition and health-current knowledge and future perspectives. Inter

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-15]

Ebrahimnezhad Y, Maherysis N, Riyazi SR, Vahdatpour S. Effect of corticosterone intake as stress-alternative hormone on broiler chickens: Performance and blood parameters. Asian J Anim Vet Adv. 2009;4:16-21.

16. Hassan SF, Elsalmoney AE, Fathi MM. Relationship between triiodothyronine (T3) and Insulin-like growth factor (IGF1) hormones in Egyptian local chickens during growth period. Egyptian Poultry Sci. 2008;28:251-63.

17. Fatemi F, Allameh A, Dadkhah A, Forouzandeh M, Kazemnejad S, Sharifi R. Changes in hepatic cytosolic glutathione S-transferase activity and expression of its class-P during prenatal and postnatal period in rats treated with aflatoxin B1. Arch Toxicol. 2006;80:572-79.

18. Scoll PF, McCoy L, Kensler TW, Groopman JD. Quantitative analysis and chronic dosimetry of the aflatoxin B1 plasma albumin adduct Lys-AFB1 in rats by isotope dilution mass spectrometry. Chem Res Toxicol. 2009;19(1):44-9.

19. Rahman MM, Islam MN, Islam MW, Kabir SML, Kamruzzaman SM. Effects of probiotics supplementation on growth performance and certain haemato-biochemical parameters in broiler chickens. Bangladesh J Vet Med. 2004;2(1):39-43.

20. Ziaei H, Karimi Torshizi MA, Bashtani M, naeemipour H, Zeinali A. Efficiency evaluation of antibiotic growth promoter's alternatives on immune response and some blood metabolites in broiler chickens. J Agri Sci Nat Resour. 2009;16(2):1-13.

21. Tze LM. In-vivo and in-vitro cholesterol removal by Lactobacilli and Bifidobacteria. A thesis submitted for degree of Doctor of Philosophy, School of Molecular Science, Victoria University, Australia; 2006. 111-124.

22. Rahmati Andani HR, Tukmechi A, Meshkiniy S, Ebrahimi H. Afzaeshe moghavemate mahi ghezelalay rangin Kaman dar barabar ofonat ba Aeromonas hydrophyla & Yersinia ruckeri ba estefade

Dairy Federation Bull. 2000;352:4-30.

5. Bhatia SJ, Kochar N, Abraham P. Lactobacillus acidophilus inhibits growth of Compylobacter in vitro. J Clin Microbiol; 1989. 27: 2328-2330.

6. Wallowski I, Rechkemmer G, Pool-Zobel BL. Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. Amer J Clin Nut; 1999. 73: 451-455.

7. Kimura K, McCartney AL, McConnel MA, Tannock GW. Analysis of fecal population of bifidobacteria and lactobacilli and investigation of the immunological responses of their human hosts to predominant strains. Appl Environ Microbiol; 1997. 63: 3394-3398.

8. Fuller R, Gibson GR. Modification of intestinal microflora using probiotics and prebiotics. Scan J Gastroenterol; 1997. 222, 28-31.

9. Ouwehand AC. Antiallergic effects of probiotics. J Nut; 2007. 137: 794-797.

10. Gibson GR, Roberfroid, MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nut; 1995. 125: 1401-1412.

11. Huang RL, Yin YL, Wu GY, Zhang YG, Li LL, Li MX et al. Effects of dietary oligochitosan supplementation on illeal digestibility of nutrients and performance in broiler. Poultry Sci; 2005. 84: 1383-1388.

12. Schrezenmeir J, De verse M. Probiotics, prebiotics and synbiotics approaching a definition. Ame J Clin Nut; 2001. 73: 361-364.

13. Saminathan M, Sieo, CC, Kalavathy R, Abdullah N, Ho YW. Effect of prebiotic oligosaccharides on growth of Lactobacillus strains used as a probiotic for chickens. African J Microbiol Res; 2010. 5(1): 57-64.

14. Gruzauskas R, Semaskaite A, Zdunczyk Z, Juskiewicz J, Raceviciute-Stupeliene A, Sasyte V. Growth performance and digestive processes in broiler chickens fed diets supplemented with xylanase and fructooligosaccharides. 16th European Symposium on Poultry Nutrition. 2007.

15. Vahdatpour T, Nazeradl K,

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-15]

az Lactobacilhay joda shode az rode kapor mamoli. Iranian J Vet. 2010;7(2): 26-35. Persian.

23. Tukmechi A, Rahmati Andani HR, Meshkiny S, Sheikhzadeh N. Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated Saccharomyces cerevisiae enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the rainbow trout, Oncorhynchus mykiss. Fish Shellfish Immunol. 2011;30:923-8.

24. President IAP. Probiotics – The health friendly gut bacteria. Indian Ped. 2008;45:953-4.

25. Jamroz D, Wiliczkiewicz A, Orda J, Wertelecki T, Skorupinska J. Response of broiler chickens to the diets supplemented with feeding antibiotic or mannan-oligosaccharides. Elec J Polish Agri Uni Series Anim Husb. 2004;7(2):1-6.

26. Gunal M, Yayli G, Kaya O, Karahan N, Sulak O. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broiler. Inter J Poultry Sci. 2006;5:149-55.

27. Zhang AW, Lee BD, Lee SK, Lee KW, An GH, Song KB, et al. Effect of yeast (Saccharomyces cerevisiae) cell components on growth performance, meat quality and ileal mucosa development of broiler chicks. Poultry Sci. 2005;84:1015-21.

28. Willis WL, Isikhuemhen OS, Ibrahim A. Performance assessment of broiler chickens given mushroom extract alone or in combination with probiotic. Poultry Sci. 2007;86:1856-60.

29. Ashayerizadeh A, Dabiri N, Mirzadeh KH, Ghorbani MR. Effect of dietary inclusion of several biological feed additives on growth response of broiler chickens. J Cell Anim Biol. 2011;5(4):61-5.

30. Ashayerizadeh A, Dabiri N, Mirzadeh KH, Ghorbani MR. Effect of dietary supplementation of probiotic and prebiotic on growth indices and serum biochemical parameters of broiler chickens. J Cell Anim Biol. 2011;5(8):152-6.

31. Vahdatpour T, Nikpiran H, Babazadeh D, Vahdatpour S, Jafargholipour MA. Effect of Protexin, Fermaco and combination of them on blood enzymes and performance of Japanese quails (Coturnix Japonica). Annals of Biological Research. 2011; 2(3):283-91.

32. Brenes A, Viveros A, Arija I, Centeno C, Pizarro M, Bravo C. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. Anim Feed Sci Technol. 2003;110: 201-19.

33. Rishi P, Mavi S, Bharrhan SK, Shukla G, Tewari R. Protective efficacy of probiotic alone or in conjunction with a prebiotic in Salmonella-induced liver damage. FEMS Microbiol Ecol. 2009; 69:222-30.

34. Yalcinkaya I, Gungor, T, Balsann M, Edrem E. Mannan oligosaccharides (MOS) from Sacharomyces cerevisiae in broiler: Effect on performance and blood biochemistry. Turkish J Vet Anim Sci. 2008;32:43-8.

35. Yeo J, Kim KI. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. Poultry Sci. 1998;76:381-5.

36. Afshar Mazandaran N, Rajab A. Probiotic and their uses in animal and poultry nutrition. 2nd ed. Tehran: Norbakhsh; 2002. Persian.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-15]

Dietary effect of L. casei and L. paracasei as probiotic bacteria with Raftilose as peribiotic on the growth and liver enzymes in rat

Bayan Seyedi, MSc. Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran. bayan.seyedi@gmail.com
Reza Heidary, PhD. Professor of Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran. r.heidari@mail.urmia.ac.ir
Amir Tukmechi, PhD. Assistant Professor of Microbiology, Department of Pathobiology and Quality Control, Artemia and Aquatic Research Institute, Urmia University, Urmia, Iran (*Corresponding author). a.tukmachi@urmia.ac.ir

Abstract

Background: The goal of this study was to evaluate the effect of two probiotics (Lactobacillus casei and Lactobacillus paracasei) with a peribiotic (Raftilose) on the growth and liver enzyme (ALP, ALT and AST) in rat.
Methods: In this laboratory experimental study forty eight male rats (175± 25 g) were randomly divided into four experimental groups each with triplicate. One group was selected as control and three groups were fed with probiotics (5×108 CFU/ml), peribiotic (5% of the diet) and a mixture of probiotics with peribiotic with the same concentrations, respectively. The animals were fed with probiotic and peribiotic for 4 weeks and trial was continued for two weeks later without receiving any additives. Sampling was scheduled at days of 0 and 30 for biometry and days of 30 and 45 for liver enzyme assay. Data were analyzed using one-way ANOVA by SPSS software.
Results: Lactobacillus casei and L. paracasei with Raftilose statistically had no effect on the rat growth ($p<0.05$). Also, results indicated that liver enzyme activity could alter independently. The amount of ALT was higher in the animal that received probiotics ($p=0.032$) than the control group at the day of 30. The level of ALP and AST not showed any statistical differences ($p<0.05$) between the groups.
Conclusions: It should be concluded that addition of Lactobacillus casei and Lactobacillus paracasei with Raftilose as a prebiotic did not affect the rat growth, but the level of ALT could increase with the probiotics. Further study should be done for obtain the best results on feeding with probiotic and prebiotic in rat.

Keywords: Rat, Probiotic, Peribiotic, Growth, Liver enzyme.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-15]