تاثیر لاکتوباسیلوس‌های پروبیوتیکی بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی موش‌های دیابتی‌شده با استرپتوزتوسین

افسانه تقی زاده: موسسه آموزش عالی ربع رشید، تبریز، ایران.
***فلور زرگری**: گروه علوم پزشکی، واحد مرند، دانشگاه آزاداسلامی، مرند، ایران (*نویسنده مسئول).zargarifkb@gmail.com
علیرضا دهناد: موسسه آموزش عالی ربع رشید، دپارتمان بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی تبریز، ایران.
پریسا حبیبی: دپارتمان فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
رخساره قادری: موسسه آموزش عالی ربع رشید، تبریز، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۹

چکیده

زمینه و هدف: افزایش سطح گلوکز خون، منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Reactive Oxygen Species-ROS) و استرس اکسیداتیو در افراد دیابتی می‌شود. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که استفاده از پروبیوتیک‌ها اثرات سودمندی در بیومارکرهای استرس اکسیداتیو دارد. هدف از مطالعه حاضر تعیین اثرات پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس و کازئی بر روی بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۳۲ راس موش نر نژاد ویستار، در ۴ گروه ۸ تایی، به ترتیب زیر گروه‌بندی شدند: گروه کنترل (CN)، که روزانه فقط غذای استاندارد و بافر فسفات سالین (Phosphate Buffer Saline-PBS) (۰/۲ میلی لیتر) دریافت نمودند، گروه کنترل دریافت کننده لاکتوباسیلوس (CL) دریافت کننده روزانه به میزان 10^9cfu/ml لاکتوباسیلوس از طریق گاواژ، گروه دیابتیک (D)، که دریافت کننده غذای پرچرب و گروه دیابتی مداخله شده با لاکتوباسیلوس(DL)، که علاوه بر رژیم غذایی پرچرب، دریافت کننده لاکتوباسیلوس‌ها روزانه به میزان 10^9 cfu/ml از طریق گاواژ بودند. بعد از ۶ هفته، سطح مالون دی آلدهید، توتال آنتی‌اکسیدان و آنزیم‌های آنتی اکسیدان اندازه‌گیری و اطلاعات به دست آمده از آزمایش‌های بیوشیمیایی توسط نرم افزار SPSS با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (one – way ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شد.

یافته‌ها: مطالعه حاضر نشان داد که تجویز باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و اسیدوفیلوس منجر به کاهش معنی‌دار در سطح سرمی مالون دی آلدئید و افزایش معنی‌دار در سطح سرمی توتال آنتی اکسیدان و سطح آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز گلبول‌های قرمز در گروه دیابتیک مداخله با لاکتوباسیلوس کازئی و اسیدوفیلوس نسبت به گروه کنترل گردید ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: مصرف لاکتوباسیلوس‌های کازئی و اسیدوفیلوس اثرات سودمندی بر بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در موش‌های دیابتی دارد.

کلیدواژه‌ها: دیابت، استرس اکسیداتیو، پروبیوتیک

مقدمه

دیابت یک مشکل مزمن بهداشت جهانی است که شیوع آن در سطح جهان در حال افزایش می‌باشد. دیابت یک اختلال متابولیک است که با افزایش میزان قند خون به دنبال نقص در ترشح انسولین و یا مقاومت به انسولین و یا هر دو ایجاد می‌شود و در درازمدت با عوارض چشمی، کلیوی، قلبی و عصبی همراه است. توسعه عوارض این بیماری یک علت عمده مرگ‌ومیر زودرس می‌باشد (۱). بر اساس آخرین آمار فدراسیون بین‌المللی دیابت (International Diabetic Federation-IDF)، تعداد افراد مبتلا به دیابت در سال ۲۰۱۳ بیش از ۳,۴ میلیون نفر در ایران و حدود ۲۸۳ میلیون نفر در جهان که این رقم با شیوع ۱۰,۱ در سال ۲۰۳۵ به ۵۹۲ میلیون نفر خواهد رسید. شیوع دیابت با ۷ تا ۸٪ در ایران شانزدهمین علت مرگ در مردان و نهمین علت مرگ در زنان ایرانی می‌باشد (۲).

عدم تعادل بین آنتی‌اکسیدان‌ها و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Reactive Oxygen Species -ROS) باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ازجمله مهم‌ترین

عوامل دفاع آنتی‌اکسیدانی هستند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide Dismutase-SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (Glutathione Peroxidase-GPx)، کاتالاز (Catalase-CAT) ازجمله مهم‌ترین عوامل آنتی‌اکسیدانی به شمار می‌روند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مالون دی آلدهید (Malonaldehyde-MAD) (از پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع حاصل می‌شود) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی به عنوان بیومارکرهای اصلی استرس اکسیداتیو می‌باشند. افزایش گلوکز در داخل و خارج سلول با سازوکارهایی شامل اتواکسیداسیون گلوکز، گلیکوزیلاسیون غیر آنزیمی پروتئین‌ها، تشکیل فرآورده‌های نهایی گلیکوزیلاسیون پیشرفته (AGEs) و فعال شدن مسیر polyol سبب تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود (۳).

یکی از مکانیسم‌های درگیر در بیماری‌زایی دیابت استرس اکسیداتیو می‌باشد. استرس اکسیداتیو علاوه بر افزایش مقاومت به انسولین و تشدید دیابت، نقش مهمی را نیز در پاتوژنز عوارض و تشدید پیامدهای بعدی دیابت دارد (۴). اهداف درمانی دیابت به طورعمده شامل کاهش مقاومت به انسولین و تحریک ترشح انسولین برای کاهش هایپر گلایسمی می‌باشد (۵).

امروزه دستکاری رژیم غذایی برای نرمال‌سازی میکروفلور روده و عملکردهای متابولیکی، اصلی‌ترین مدیریت برای درمان و پیشگیری برخی بیماری‌ها است. یک رژیم غذایی کنترل شده یک گزینه مهم غیر دارویی برای پیشگیری از دیابت و عوارض آن می‌باشد. بهترین راه برای کنترل فلور روده مصرف پروبیوتیک‌ها است (۶). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ی غیر بیماری‌زا هستند که اگر به‌اندازه‌ی کافی مصرف شوند دارای فوایدی برای سلامتی میزبان خود می‌باشند (۷-۹). مکانیسم پیشنهادی برای توجیه توانایی پروبیوتیک‌ها در محافظت میزبان خود، مقاومت در برابر کلونیزه شدن و مهار استقرار گونه‌های پاتوژن می‌باشد. همچنین با تولید اسیدهای آلی نظیر (استات، پروبیونات، بوتیرات)، ترکیبات باکتریوسن، ایجاد مهار رقابتی در جایگاه‌های اتصال باکتری‌ها بر روی سطوح اپیتلیال روده با گونه‌های پاتوژن و تقویت سیستم ایمنی می‌توانند میزبان خود را در مقابل عوامل پاتوژن محافظت نمایند (۸ و ۹). همچنین پروبیوتیک‌ها خود توانایی تولید متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی، توانایی تنظیم فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های میزبان، افزایش سطح متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی در میزبان، افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در میزبان با تنظیم برخی مسیرهای سیگنالینگ (از قبیل Nrf_2,MAPK,NF_{κ}-B,PKC)، کاهش تولید ROS از طریق کاهش فعالیت آنزیم‌های تولیدکننده رادیکال‌های آزاد، باعث تنظیم سطح آنتی‌اکسیدان‌ها در میزبان خود می‌شوند (۱۰). انتخاب شایع استفاده از باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک برای تولید پروبیوتیک‌هاست که شامل گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم ها می‌باشد (۸).

روش کار

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده و در مرکز تحقیقات شهید سرداری تبریز انجام شد و کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی مورد تایید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی بود. دراین پژوهش، از موش‌های بالغ نژاد ویستار با محدوده‌ی وزنی ۲۰۰±۳۰ گرم که از دانشگاه علوم پزشکی تبریز خریداری شده بودند، استفاده گردید. موش‌ها در قفس های ۸ تایی در محدوده درجه حرارت (۲۲±۳ درجه سانتی گراد)، با دوره نوری ۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت ۶۰±۵ درصد در حیوانخانه مرکز تحقیقات شهید سرداری تبریز نگهداری شدند.

گروه بندی: بعد از یک هفته سازگاری با محیط، حیوانات به صورت تصادفی به چهار گروه مساوی (۸ موش در هر گروه) تقسیم شدند:

گروه اول (CN)، موش های غیر دیابتی سالم، گروه دوم (CL) موش های غیر دیابتی مداخله با لاکتوباسیلوس، گروه سوم (D) موش های دیابتی و گروه چهارم (DL) موش های دیابتی مداخله با

لاکتوباسیلوس می‌باشد. دو گروه غیردیابتی روزانه غذای استاندارد با فرمولاسیون (پروتئین خام ۰/۲۳٪، چربی خام ۳/۵-۴/۵٪، فیبر خام۴/۵-۴٪، خاکستر حداکثر۱۰٪، رطوبت۱۰ ٪، کلسیم ۱ الی ۹۵٪، فسفر۷٪-۶۵٪، نمک۰/۵الی۰/۵۵٪، لیزین۱/۵٪، متیونین ۳۳ /۰٪، سیستئین۰/۶۳٪، ترئونین۷/۲٪، تریپتوفان۲۵٪ و انرژی ۱۷-۱۶/۱۶٪) دریافت کردند. گروه غیردیابتی سالم علاوه بر غذای استاندارد، روزانه ۰/۲میلی لیتر بافر فسفات سالین (Phosphate Buffer Saline-PBS) دریافت نمودند. دو گروه دیابتی نیز روزانه با ۳۰ گرم غذای پرچرب (با فرمولاسیون یک کیلوگرم غذای استاندارد به اضافه ۲۰۰ گرم روغن زرد حیوانی، ۲۰۰ گرم پیه گوسفندی) تغذیه شدند. در دو گروه مداخله با لاکتوباسیلوس نیز موش ها روزانه به طور منظم 10^9CFU/ML لاکت وباسیلوس اسیدوفیلوس و کازئی از طریق گاواژ دریافت کردند. لاکتوباسیلوس ها توسط گروه پژوهشی میکروبیولوژی درمرکز تحقیقات شهید سرداری تبریز، با

جمع آوری پنیرهای بومی از شمال غرب و غرب کشور (مغان، کرمانشاه، مشکین شهر و آذرشهر) جداسازی شدند و پس از تایید سویه های اسیدوفیلوس و کازئی مورد استفاده قرارگرفت. سویه های جداشده پس از تکثیر، در نهایت با ترکیبی از روش های امولسیون و ژل شدن آنزیمی با رنت در داخل کپسول‌های پروتئینی از جنس کازئین شیر، میکروکپسوله شده وآماده برای گاواژ مورد استفاده قرارگرفتند (۱۱).

دیابتی کردن موش‌ها: القای دیابت در گروه های دیابتی با تزریق داخل صفاقی (استرپتوزتوسینSTZ) به میزان ۳۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش صورت گرفت. ۴۸ ساعت پس ازتزریق، با ایجاد جراحت کوچکی در انتهای دم موش ها، سطح گلوکز خون ناشتای آن ها با استفاده از دستگاه گلوکومتر (infopia GlucoLab) اندازگیری شد. قند خون بالای 250mg/dl میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد (۱۲).

نمونه گیری: درپایان دوره آزمایش (۶ هفته)، همه حیوانات توسط اتر بیهوش شدند و خونگیری از قلب انجام شد. میزان مالون دی آلدهید (MDA) با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون به روش اسپکتوفتومتریک و آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) ، (Randox RANSOD labs.Crumlin UK) گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) RANSEL(Randox labs.Crumlin UK و کاتالاز توسط روش Abei (۱۳) و اندازگیری سطح توتال آنتی‌اکسیدان براساس دستورالعمل ساخت انگلیس (Randox labs.Crumlin UK و برای سنجش غلظت مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان شاخص پر اکسیداسیون لیپید از روش Yagi(۱۴) استفاده شد. اساس روش اندازه گیری MDA سرمی بر پایه واکنش با تیوباربیتوریک اسید (TBA)، استخراج با بوتانل نرمال، اندازه گیری جذب باروش اسپکتروفتومتری انجام گرفت. تجزیه و تحلیل آماری: اطلاعات به دست آمده از آزمایش های بیوشیمیایی توسط نرم افزار SPSS با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (one – way ANOVA) مورد تجزیه وتحلیل آماری قرار گرفتند. مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شد.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که تجویز لاکتوباسیلوس های کازئی و اسیدوفیلوس باعث افزایش معنی داردر میزان فعالیت آنزیم‌های GPx وCAT درگروه دیابتی مداخله با لاکتوباسیلوس نسبت به گروه دیابتی شد ($p<۰/۰۵$)، ولی تفاوت معنی داری در میزان آنزیم SOD درگروه دیابتی و دیابتی مداخله با لاکتوباسیلوس مشاهده نشد. تجویز لاکتوباسیلوس ها باعث کاهش معنی دار سطح مالون دی آلدهید (MAD) در گروه های مداخله با لاکتوباسیلوس دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی گردید. همچنین افزایش معنی دار در سطح توتال آنتی‌اکسیدان (Total Antioxidant Capacity-TAC) در گروه مداخله با لاکتوباسیلوس دیابتی نسبت به گروه های کنترل دیابتی مشاهده گردید. نتایج مربوط به آنزیم‌های SOD، GPx وCAT در گروه‌های مورد بررسی در جدول

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار آنزیم ها ی سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)گلوتاتیون پراکسیداز(GPx) و کاتالاز(CAT) در موش های مورد مطالعه

گروه‌ها	CAT(kat/grHb) Mean±SD	GPx(U/grHb) Mean±SD	SOD(U/grHb) Mean±SD
کنترل نرمال(CN)	۱۱۲/۲۱±۵۰/۸۵[a]	۶۸/۴±۶۸/۲۸[a]	±۳۷/۱۴۷۴ ۱۲۶/۱۶[b]
کنترل مداخله با لاکتوباسیلوس(CL)	۱۲۶/۳۱±۲۵/ ۹۸[a]	۷۰/۲±۹۳/ ۲۲[a]	۱۶۴۵/۲۴۵±۸۷/۵۱[a]
دیابتی(D)	۷۹/۱۷±۷۵/۸۲[b]	۳۷/۱۲±۷۵/۱۷[b]	۱۰۸۹/۹۲±۶۸/۲۰[c]
دیابتی مداخله با لاکتوباسیلوس(DL)	۹۵/۸±۱۲/۰۹[c]	۵۸/۶±۵۰/۴۵[c]	۱۱۵۳/۱۵۶±۵۶/۹۹[c]

(a,b,c,d) حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر اختلاف معنی دار مابین گروه های مورد مطالعه است ($p<0.05$)

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار غلظت سرمی مالون دی آلدئید (MDA) و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) در موش های مورد مطالعه

گروه‌ها	TAC (میلی مول بر لیتر) Mean±SD	MAD(نانومول بر لیتر) Mean±SD
کنترل نرمال(CN)	۱/۰±۴۰/۲۵[b]	۲/۰±۶۴/۱۲۹b
کنترل مداخله با لاکتوباسیلوس(CL)	۱/۰±۲۰/۲۴[b]	۲/۰±۹۷/۳۷۳[b]
دیابتی(D)	۰/۰±۸۹/۱۷[c]	۴/۰±۲۱/۹۲۸[a]
دیابتی مداخله با لاکتوباسیلوس(DL)	۱/۰±۶۷/۱۰[a]	۲/۰±۵۲/۳۵۷[b]

(a,b,c,) حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر اختلاف معنی دار مابین گروه های مورد مطالعه است ($p<0.05$)

۱ و مقادیر MAD ,TAC در جدول ۲ ارائه شده است.

بحث و نتیجه گیری

در بررسی حاضرتجویزلاکتوباسیلوس‌های اسیدوفیلوس و کازئی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی وکاهش میزان شاخص پراکسیداسیون لپیدی یعنی مالون دی آلدهید در موش های دیابتیک مداخله با لاکتوباسیلوس در مقایسه با موش های گروه کنترل شد.

در رابطه با تغییرات پراکسیداسیون لپیدی و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی در گلبول های قرمز بیماران دیابتی گزارش های متناقضی مطرح می‌باشد. نتایج بعضی از مطالعات حاکی از افزایش (۱۵)، و برخی کاهش (۱۶) و یا غیرقابل تغییربودن (۱۷) موارد فوق می‌باشد. مطالعه حاضر نشان داد که سطح پلاسمایی مالون دی آلدهید در موش های دیابتی نسبت به موش های گروه کنترل، افزایش و سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش یافت. این نتایج در موافقت با بسیاری از مطالعات قبلی می‌باشد (۱۵).

هایپرگلایسمی ناشی از دیابت باعث فعال شدن مسیر polyol شده درمسیر NADPH،polyol که کوفاکتورضروری آنزیم NADHاکسیداز (از منابع آنزیمی ایجادکننده استرس اکسیداتیو به شمارمی رود) افزایش می یابد و از این طریق هایپرگلایسمی می تواند باعث کاهش سطح آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز شود (۱۸). مطالعات نشان داده اند در بیمارانی که دیابت آن ها کنترل نشده است سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز(SOD) کاهش می یابد. شواهد حاکی ازآن است که کمبود کاتالاز در گلبول های قرمز با افزایش خطر ابتلا به دیابت ارتباط دارد (۱۹). بسیاری از مطالعات نشان می دهد که عوامل آنتی‌اکسیدان باعث کاهش انسولین پلاسما، گلوکز، تری گلیسیرید و بهبود سطح مقاومت به انسولین در موش KKAY می‌شود (۴) .

در مطالعات مختلف انجام شده با ترکیب سویه‌های مختلف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتو باسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم کازیی و لاکتو باسیلوس رامنسوس و لاکتو باسیلوس GG (۲۳-۱۹) نشان داده شده است که سطح سرمی قند خون درگروه های مورد مداخله با لاکتوباسیلوس‌ها نسبت به گروه کنترل کاهش می یابد.

دلایل احتمالی افزایش رادیکال‌های آزاد در بیماران دیابتی به دلیل افزایش تولید اکسیژن فعال در نتیجه ی عمل گلیکوزیله شدن،

پراکسیداسیون و اتواکسیداسیون گلوکز، اکسید شدن گلوکز به گلوکز اسیدی و کاهش سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آن ها است (۲۴).

یک عامل بسیارمهم در کاهش پراکسیداسیون لپیدی در بیماران دیابتی تنظیم قندخون است. جلوگیری ازتشکیل پراکسیداسیون لپیدی باعث کاهش پیشرفت دیابت و عوارض ناشی از آن می‌شود (۲۵). کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می تواند به دلیل افزایش تولید رادیکال‌های آزاد باشد که باعث اکسید شدن و سپس دناتوره شدن آنزیم می‌شود و یا اینکه این کاهش فعالیت در نتیجه‌ی هایپرگلایسمی طولانی مدت و گلیکوزیلاسیون آنزیمی اتفاق افتاده و منجربه مهار فعالیت آنزیم شود (۲۶). از این رو احتمال می رود که پروبیوتیک‌ها از طریق مکانیسم‌های یاد شده، با کاهش سطح قند خون باعث کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش سطح استرس اکسیداتیو در افراد دیابتی می‌شود.

پروبیوتیک‌ها به طور معنی داری پراکسیداسیون لپیدی و تشکیل نیتریک اکساید را در بافت پانکراس مهارکرده واز این طریق آسیب اکسیداتیو ایجاد شده را کاهش و مقادیر آنتی‌اکسیدان‌ها از قبیل گلوتاتیون، گلوتاتیون پراکسیداز و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می دهند. همچنین کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از مصرف پروبیوتیک‌ها به دلیل اثر آن ها بر افزایش سطح گلوتاتیون احیا شده ومهارادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید می‌باشد (۲۷). انواعی از پروبیوتیک‌ها، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی پلاسما، کبد و روده را افزایش می دهند و باعث افزایش بیان ژن آنزیم سوپر اکسید دیس موتاز (SOD) می‌شوند (۸).

داوری و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی ۴۰ موش نر ویستار در طی ۸ هفته با تجویز لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدو باکتریوم لاکتیک و لاکتوباسیلوس فرمنتوم، پروفایل گلایسمیک و سطح آنتی‌اکسیدان آنزیمی سرم را مورد بررسی قرار دادند که در نتیجه سطح سرمی گلوکز ناشتا در گروه کنترل نسبت به گروه شاهد کاهش نشان می داد و فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نیز به طور معنی داری در گروه کنترل نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داده است که با نتایج این پژوهش در سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز همخوانی ندارد (۸).

هسیه و همکاران در سال ۲۰۱۳ با بررسی اثر خوراکی لاکتو باسیلوس رئوتری بر روی مدل حیوانی، پروفایل گلایسمیک وسطح سرمی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را مورد بررسی قرار دادند که در نتیجه سطح سرمی گلوکز کاهش و همچنین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به طور معناداری نسبت به گروه شاهد افزایش نشان می داد (۲۸) که تغییرفعالیت آنزیم سوپراکسید با مطالعه حاضر همخوانی ندارد. به دلیل نیمه عمر پایین آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، راهکارهای درمانی آن نیز محدود می‌باشد. یک انتقال دهنده مناسب برای حمل این آنزیم در گردش خون می تواند این مشکل را از بین ببرد. پیشنهاد شده است که باکتری‌های پروبیوتیک قادر به تولید این آنزیم در محل مناسب در روده، بیماری‌های ناشی از افزایش تولید ROS را کاهش دهند (۱۰).

پروبیوتیک مورد استفاده دراین پژوهش نیز احتمالاً با مسیرهای یاد شده با کاهش سطح گلوکز خون در افراد دیابتی باعث کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژنی وکاهش استرس اکسیداتیو ناشی از آن می‌شود. کاهش سطح گلوکز خون با کاهش پراکسیداسیون لپیدی، سطح مالون دی آلدئید پلاسمارا پایین می آورد و از این طریق باعث افزایش ظریفت تام آنتی‌اکسیدانی درگروه‌های مداخله می گردد. با توجه به مطالعه حاضر می‌توان گفت که مصرف پروبیوتیک باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس اکسیداتیو در موش های دیابتی می گردد. بنابراین با توجه به افزایش شیوع بیماری دیابت و هزینه‌هایی که برای درمان دیابت و عوراض آن صورت می گیرد و براساس نتایج حاصل از این پژوهش مصرف منظم و طولانی مدت پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس های (اسیدوفیلوس و کازئی)، به عنوان یک مکمل در کنار درمان اصلی، برای به تاخیر انداختن پیشرفت دیابت و عوارض ناشی از آن توصیه می‌گردد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه خانم افسانه تقی زاده برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوشیمی از موسسه غیرانتفاعی ربع رشید تبریز می‌باشد. بدین‌وسیله از مسؤلین مربوطه و اساتید محترم صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Lefèbvre P, Pierson A. The global challenge of diabetes. World Hosp Health Serv; 2004. 40(37):40-42.
2. IDF. International Diabetes Federation. Diabetes in Iran. IDF; 2013. Available from: http://www.idf.org/members hip/mena/iran.
3. Taheri E, Galali M, Saedi A, Gorbani M, Madani M.[Compered the antioxidant activity of superoxide dismutase,glutathione peroxidase and glutathione reductase red blood cells in patients with type 2diabetes compared to healthy subjects]. Lipid Diabetes J; 2012.11(5): 464-73 . Persian.
4. Tangvarasittichai S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. World J Diabetes 2015;6(3):456-80.
5. Kahn CR. Banting Lecture. Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes. Diabetes; 1994.43:1066-84.
6. Mengheri E. Health, probiotics, and inflammation. J Clin Gastroenterol; 2008.42:177-8.
7. Wallace TC, Guarner F, Madsen K, Cabana MD, et al. Human gut microbiota and its relationship to health and disease. Nutr Rev; 2011.69:392-403.
8. Davari S, Talaiy A, Soltani M, Alaiy H, Salamati M. [The effect of Bacterium Bifidobacterium lactis combination of probiotics on learning, memory and oxidative stress parameters in diabetic rats]. Tehran Uni Med J; 1391.70(9);531-9. [Persian].
9. Bejar W, Hamden K, Salah RB, Chouayekh H. Lactobacillus plantarum TN627 significantly reduces complications of alloxan-induced diabetes in rats. Anaerobe; 2013.24:11-4.
10. Wang Y, Wu Y, Wang Y, Xu H, Mei X, Yu D, et al. Antioxidant roperties of probiotic bacteria. Nutrients; 2017.9:521.
11. [11] Heidebach T, Forst P, Kulozik U. Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins. Food Hydrocolloids; 2009.23(7):1670-7.
12. Al-Awwadi NA, Araiz C, Bornet A, et al. Extracts enriched in different polyphenolic families normalize increased cardiac NADPH oxidase expression while having differential effects on insulin resistance, hypertension, and cardiac hypertrophy in high-fructosefed rats. J Agric Food Chem; 2005.53(1):7-151.
13. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol 1984.105:121-6.
14. Yagi K. Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine. In: Free Radicals in Diagnostic Medicine. Plenum Press;1994 .p. 1-15.
15. Turk HM, Sevinc A, Camci C, Cigli A, Buyukberber S, Savli H, Bayraktar N. Plasma lipid peroxidation products and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus. Acta Diabetol; 2002.39(3):117-22.
16. Cigremis Y, Kose M, Ozgurlu F, Turkoz Y, Egri M. The investigation of erythrocyte SOD, Cat and GPX antioxidant enzyme level in pateints with type 2 diabetes mellitus. GU J Science; 2003. 16(2):239-44.
17. Taysi S, Bakan E, Memisogullari R, Capoglu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus. Cell Biochem Funct; 2003.21(3):291-6.
18. Razmpoosh E, Ejtahed HE, Mirmiran P. [The role of probiotics in glycemic control and body weight in type 2 diabetes]. Journal of Endocrinology and Metabolism; 1394.17(1) :63-87. [Persian].
19. Taysi S, Bakan E, Memisogullari R, Capoglu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus. Cell Biochem Funct; 2003.21(3):291-6.
20. Al-Salami H, Butt G, Fawcett JP, Tucker IG, Golocorbin-Kon S, Mikov M. Probiotic treatment reduces blood glucose leveil and increases systemic absorption of gliclazide in diabetic rats. European J Drug Metabol Pharmacokinetics; 2008.33:101-6.
21. Andersson U, Branning C, Ahrne S, Molin G, Alenfall J, Onning G, et al. Probiotics lower plasma glucose in the high-fat fed c57bl/6j mouse. Benef Microbes; 2010.1:189-96.
22. Honda K, Moto M, Uchida N, He F, Hashizume N. Anti-diabetic effects of lactic acid bacteria in normal and type 2 diabetic mice. J clin Biochem Nutr; 2012. 51(2):696-701.
23. Huang HY, Korivi M, Tsai CH, Yang JH, Tsai YC. Effect of Lactobacillus plantarum K68 and supplementation fruit-vegetable ferment along with high fat-fructose diet attenuates metabolic syndrome in rats with insulin resistance. Evid Based Complement Alternat Med; 2013.12.
24. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Diabetes mellitus, hypertension and cardiovascular disease. The role of oxidative stress. Metabolism; 1995. 44:363-8.
25. Marjani A.[The plasma malondialdehyde and erythrocyte antioxidant enzyme activity in patients with type 2 diabetes]. J Ardabil Uni Med; 2006. 6(2):183-7. [Persian].
26. Hunt J, Wolff SP. Oxidative glycation and free radical production: a causal mechanism of diabetic

complications. Free Rad Res Commun; 1991.12-13(1):115-23.

27. Yadav H, Jain S, Sinha PR. Oral administration of dahi containing probiotic Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei delayed the progression of streptozotocin-induced diabetes in rats. J Dairy Res; 2008.75(2):189-95.

28. Hsieh F, Lee CH, Chai CH, Chen W, Lu Y, Wu CH. Oral administration of lactobacillus reuteri GMNL- 263 improves insulin resistance and ameliorates hepatic steatosis in high fructose-fed rats. Nutr Metab (Lond); 2013.10(1):35.

The effect of probiotic *Lactobacillus* on serum antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rats

Afsaneh Tagizadeh, Higher education institute of Rab-Rashid, Tabriz, Iran.
Felor Zargari, Department of Medical Sciences, Marand Branch, Islamic Azad University, Marand, Iran (*Corresponding author). zargarifkb@gmail.com.
Alireza Dehnad, Biotechnology Department, East Azerbaijan Research and Education Center Agricultural and Natural Resources, AREEO, Tabriz, Iran.
Parisa Habibi, Department of physiology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Science, Hamadan, Iran.
Rokhsare Gaderi, Higher education institute of Rab-Rashid, Tabriz, Iran.

Abstract

Background: Blood glucose increases production of Reactive Oxygen Species (ROS) and oxidative stress in diabetic patients. Recent research suggests that use of probiotics have beneficial effects on biomarkers of oxidative stress. The aim of this study was to determine effects of probiotics *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* on biomarkers oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats.

Methods: 32 male wistar rats were assigned to 4 groups randomly: group CN, consumed a normal standard diet (with buffer saline 0.2), group CL (probiotic diet 10^9cfu / ml), group D (diabetic rats+high fat diet), group DL (diabetic rats+high fat+probiotic). After 6 weeks levels of malondialdehyde, total antioxidant and antioxidant enzymes (catalase, glutathion peroxidase and superoxide dismutase) were measured.

Results: A significant decreases in serum levels of malondialdehyde and significant increase in levels of antioxidant enzymes (catalase and glutathion peroxidase) and total antioxidant capacity were observed in the probiotic supplements groups ($p<0.05$).

Conclusion: Consumption of probiotics *Lactobasilus acidophilus* and *Lactobacillus casei* had beneficial effects on biomarkers of oxidative stress in diabetic rats.

Keywords: Diabetes, Oxidative stress, Probiotic