اثر ترمیمی لاکتوباسیلوس پلانتاروم جداشده از پنیر سنتی ایران بر زخم معده ناشی از اسید استیک در موش صحرایی

*هلیا ابوطالبی I

دکتر میترا حیدری نصرآبادی II

دکتر مریم تاج‌آبادی ابراهیمی III

دکتر محمد شعبانی IV

فریما زاهدی V

چکیده

زمینه و هدف: پروبیوتیک‌ها، کشت میکروارگانیسم‌های زنده‌ای است که اگر به تعداد کافی مصرف شوند- با حفظ تعادل جمعیت میکروبی بومی روده- روی سلامت مصرف کننده اثرات مطلوبی می‌گذارند. یکی از مهم‌ترین گروه‌های پروبیوتیک، باکتری‌های لاکتیک اسید هستند، که به طور معمول در مایهٔ محصولات لبنی استفاده می‌شوند. عمل باکتری‌های لاکتیک اسید وابسته به گونه و سویهٔ خاص می‌باشد و بستگی به میزان کافی باکتری حاضر در روده‌ها دارد. پیچیدگی در شناسایی و طبقه‌بندی سویه‌ها، به دلیل آنکه منافع فقط ممکن است متعلق به سویه‌های خاص باشد، تحقیقات را مشکل کرده است. هدف مطالعهٔ حاضر بررسی اثر پروبیوتیک سویهٔ لاکتوباسیلوس پلانتاروم جداشده از پنیر سنتی ایران بر ترمیم زخم معده می‌باشد.

روش کار: این مطالعه از نوع تجربی بوده که در آن ۲۲ سویه لاکتوباسیل جدا شده از محصولات لبنی سنتی ایران که توانایی رشد و بقاء در سیستم گوارشی آن‌ها در مطالعات قبلی بررسی شده بود، از نظر تولید اگزوپلی ساکارید با روش فنل سولفوریک بررسی شدند. لاکتوباسیلوس پلانتاروم که اگزوپلی‌ساکارید تولیدی بالایی داشت انتخاب گردید. برای بررسی اثر این پروبیوتیک، موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار به گروه‌های تجربی، کنترل و کنترل منفی تقسیم شدند. موش‌ها پس از تحمل بیست و چهار ساعت گرسنگی، تحت عمل جراحی قرار گرفتند. زخم معده توسط ۰/۱۲ میلی‌لیتر اسیداستیک(60% v/v) ایجاد شد. یک روز پس از جراحی گروه‌های تجربی، روزانه ماده تلقیح شامل 1×10^{10} cfu/day لاکتوباسیلوس پلانتاروم محلول در شیر، گروه‌های کنترل شیر استرلیزه و کنترل منفی نرمال سالین به طریقهٔ گاواژ برای چند روز متوالی دریافت کردند. موش‌ها پنج و چهارده روز پس از ایجاد زخم معده کشته، معده آن‌ها خارج و ابعاد زخم (میلی‌متر مربع) محاسبه شد. پس از بافت‌شناسی، میزان اثر این پروبیوتیک بر ترمیم زخم معده در هر موش تعیین گردید. آنالیز داده‌ها توسط نرم افزار SPSS انجام، و نتایج آزمایش‌ها به صورت Mean ± SEM گزارش شد.

یافته‌ها: لاکتوباسیلوس پلانتاروم ابعاد زخم را نسبت به دو گروه کنترل و کنترل منفی به‌طور معنی‌داری کاهش و ترمیم زخم معده را افزایش داد. بررسی مطالعات بافت شناسی در روز پنجم نشان دهنده کاهش معنی‌دار میزان نوتروفیل‌ها در واحد سطح($p<0/001$) و افزایش ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها بود($p<0/001$). همچنین در روز چهاردهم در میزان نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها کاهش معنی‌دار($p<0/001$) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: لاکتوباسیلوس پلانتاروم دارای اثر ترمیمی قابل‌ملاحظه بر زخم معده ناشی از اسید استیک در موش صحرایی می‌باشد.

کلید واژه‌ها: ۱- پروبیوتیک ۲-لاکتوباسیلوس پلانتاروم ۳-زخم معده ٤-ترمیم

تاریخ دریافت:۸۹/۴/۸ ، تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۶

مقدمه

بینش در تنوع و عملکرد میکروبیوتیک‌های روده‌ای انسان، توسط مطالعات کلینیکال با باکتری‌هایی که عملکردهای ویژه‌ای دارند و آن‌هایی که به عنوان پروبیوتیک‌ها، اثر مثبت بر سلامتی دارند به دست آمده است. تلاش‌های آغازین در حمایت‌های علمی دقیق بر سودمندی این باکتری‌های پروبیوتیک بنا نهاده شده بود

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان‌نامه خانم هلیا ابوطالبی جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد زیست‌شناسی به راهنمایی دکتر میترا حیدری نصرآبادی و مشاوره دکتر مریم تاج آبادی ابراهیمی و دکتر محمد شعبانی، سال ۱۳۸۹.

I) کارشناس ارشد گروه زیست‌شناسی سلولی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران (*مولف مسئول)

II) استادیار و متخصص زیست‌شناسی سلولی تکوینی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، تهران، ایران

III) استادیار و متخصص میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

IV) دانشیار و متخصص بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی ایران، تهران، ایران

V) کارشناس ارشد گروه زیست‌شناسی سلولی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-20]

که به طور خاص شامل گونه‌های *Lactobacillus* و *Bifidiobacterium* می‌شود.[۱] پروبیوتیک‌ها، کشت میکروارگانیسم‌های زنده‌ای است که اگر به تعداد کافی مصرف شوند- با حفظ تعادل جمعیت میکروبی بومی روده- روی سلامت مصرف کننده اثرات مطلوبی می‌گذارند.[۲]

مطالعات انجام گرفته بر روی پروبیوتیک‌ها نشان داده‌اند که آن‌ها می‌توانند مانع توسعه بیماری شوند.[۳] مصرف خوراکی پروبیوتیک‌ها در درمان اختلالات معدی-روده‌ای متعددی از قبیل زخم‌های گوارشی، اسهال، و سرطان‌های کولون سودمند بوده‌اند.[٤] پروبیوتیک‌ها از ایجاد زخم‌های گوارشی به واسطه هلیکوباکترپیلوری، جلوگیری می‌کنند[٥] و همچنین باعث بهبود در کولیت‌های تولید زخم می‌شوند.[٦]

یکی از مهم‌ترین گروه‌های باکتری‌های پروبیوتیک باکتری‌های لاکتیک اسید هستند که عمل آن‌ها وابسته به گونه و سویهٔ خاص می‌باشد و بستگی به میزان کافی باکتری حاضر در روده‌ها دارد. با این حال پیچیدگی در شناسایی و طبقه‌بندی سویه‌ها، به دلیل آنکه منافع فقط ممکن است متعلق به سویه‌های خاص باشد، تحقیقات را مشکل کرده است.[۷]

باکتری‌های لاکتیک اسید در طبیعت – در خاک، سبزیجات، گوشت، شیر و بدن انسان گسترده هستند. بسیاری از آن‌ها در مایهٔ محصولات لبنی استفاده شده‌اند. آن‌ها به عنوان محصول اصلی، اسید لاکتیک تولید می‌کنند.[۱]

اثرات پروبیوتیکی نسبت داده شده به باکتری‌های لاکتیک اسید و محصولات لبنی تخمیر شده نه تنها از تمام میکروارگانیسم‌ها و اجزای دیوارهٔ سلولی‌شان برمی‌خیزد، بلکه از متابولیت‌ها ازقبیل پپتیدها و پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی تولید شده در زمان تخمیر نیز ناشی می‌شود.[۸]

تعیین توانایی تولید اگزوپلی‌ساکارید (Exopolysaccharide-EPS) توسط هر سویه پروبیوتیک بسیار اهمیت دارد، زیرا اگزوپلی‌ساکارید اتصال میکروارگانیسم به دیواره روده را سبب می‌شود.[۹]

اگزوپلی‌ساکارید تولید شده توسط این میکروارگانیسم‌ها خواص محرک سلامتی از قبیل تحریک ایمنی[۱۰و۱۱]، فعالیت ضد زخم‌های گوارشی[۱۲] و کاهش کلسترول[۱۳] دارند. همچنین این اگزوپلی‌ساکارید عموماً ضامن سلامتی شناخته می‌شود و بنابراین بیوتکنولوژیست‌ها در تحقیقات برای یافتن سویه‌های جدیدی هستند که تولید اگزوپلی‌ساکارید بالایی داشته باشند.[۱٤]

در یک مطالعه آزمایشگاهی در سال ۲۰۰۷ ، Emily K برای اولین بار دریافت که پروبیوتیک *Lactobacillus rhamnosus* GG قادر به تسریع ترمیم زخم معده است. این سویه بر عملکرد فیزیولوژیک غشاء مخاطی یک معده طبیعی اثری ندارد، اما بر روی معده‌هایی که در آن ها زخم گوارشی ایجاد شده اثر داشته و به ترمیم آن ها کمک می‌کند.[۱۵] در همان سال گزارش شد که لبنیات شامل پروبیوتیک‌ها از جمله *Bifidiobacterium lactis* و *Lactobacillus acidopilus* فعالیت قابل توجهی بر ضد زخم‌های گوارشی در مدل‌هایی که این زخم‌ها بر اثر استرس، اتانول و ایبوپروفن به وجود آمده بودند، دارند.[۱٦]

علی رغم فواید این باکتری‌ها، همچنان مطالعهٔ نقش پروبیوتیک‌ها و تأثیر سویه‌های خاص مخصوصاً سویه‌های بومی ایران بر ترمیم زخم‌های گوارشی محدود می‌باشد. همچنین مصرف داروهای شیمیایی در درمان زخم‌های گوارشی که امروزه یکی از شایع‌ترین بیماری‌هاست، همراه با عوارض جانبی است. بنابراین یافتن راه‌حل جایگزین و استفاده از شیوه‌های درمانی که علاوه بر سودمندی و درمان بیماری مذکور اثرات جانبی به همراه نداشته باشد، می‌تواند چالشی مهم در علم پزشکی باشد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-20]

با توجه به کاربرد احتمالی بسیار مهم باکتری‌های پروبیوتیک در سیستم بیولوژیک خصوصاً در دستگاه گوارش، مطالعه حاضر جهت بررسی اثر لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از پنیر سنتی ایران بر ترمیم زخم معده طراحی شده است.

روش کار

این مطالعه از نوع تجربی بوده و هدفش بررسی اثر لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از پنیر سنتی ایران بر ترمیم زخم معده ناشی از اسید استیک با توجه به شاخص درصد بهبود زخم، تراکم فیبروبلاست‌ها وفاکتورهای التهابی است.

حیوانات مورد آزمایش

در این تحقیق از ٤٢ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار (وزن ٢٩٠-٢٦٠ گرم) تهیه شده از موسسه تحقیقات و سرم سازی رازی استفاده شد. موش‌ها در قفس های انفرادی تمیز نگهداری می شدند و به آب و خوراک دسترسی داشته و همگی در یک حیوان خانه که شرایط استاندارد در آن رعایت می شد به سر می بردند.

گروه‌ها

١) گروه‌های تجربی: گروه تجربی ١ و گروه تجربی ٢ که تحت درمان باکتریایی پس از ایجاد زخم معده توسط اسید استیک قرار گرفتند و به ترتیب در روزهای ٥ و ١٤ مورد بررسی قرار گرفتند.

٢) گروه‌های کنترل: گروه کنترل١ و گروه کنترل٢ که شیر استریلیزه دریافت کرده و به ترتیب در روزهای ٥ و ١٤ مورد بررسی قرار گرفتند.

٣) گروه‌های کنترل منفی: گروه کنترل منفی ١ و گروه کنترل منفی ٢ که نرمال سالین دریافت کرده و به ترتیب در روزهای ٥ و ١٤ مورد بررسی قرار گرفتند.

تعیین سویه مورد نظر

٢٢ سویه لاکتوباسیل جداشده از پنیر سنتی ایران که توانایی رشد و بقاء در سیستم گوارشی آن‌ها در مطالعات قبلی بررسی شده بود از نظر تولید اگزوپلی‌ساکارید توسط تست فنول سولفوریک[١٧] بررسی شدند. لاکتوباسیلوس پلانتاروم که اگزوپلی‌ساکارید تولیدی بالایی داشت، انتخاب گردید.

کشت باکتریایی

لاکتوباسیل‌ها در محیط Lactobacilli MRS Agar برای ٤٨ ساعت در ٣٧ درجه سانتی گراد رشد کرده تا فاز ثابت به دست آید. با قاشقک استریل از باکتری به آب مقطر استریل اضافه و توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر جذب نوری آن اندازه‌گیری شد تا میزان باکتری مورد نظر به دست آید. سپس در ٤٠٠٠ دور برای ٢٠ دقیقه سانتریفیوژ، از آب مقطر جدا و در شیر استرلیزه حل شد. ماده تلقیح برای گروه‌های تجربی شامل 10^{10} cfu/ml باکتری محلول در شیر استرلیزه تعیین گردید.

ایجاد زخم معده

موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار (وزن ٢٩٠-٢٦٠ گرم) به طور تصادفی به گروه‌های تجربی، کنترل و کنترل منفی دسته‌بندی شدند (هر گروه هفت موش صحرایی). موش‌ها با یک رژیم آزمایشگاهی استاندارد تغذیه و به آن‌ها آب معمولی داده شد. قبل از جراحی موش‌ها برای ٢٤ ساعت از غذا محروم شدند، اما به طور آزاد به آب دسترسی داشتند. زخم معده توسط القای لومینال محلول اسید استیک (60 % v/v) ایجاد شد.[١٨]

به طور خلاصه موش‌ها با داروی بیهوشی کتامین زایلازین بیهوش شدند. برش کوچکی روی شکم آن‌ها داده شد و معده خارج گردید. دو سر معده توسط گیره مسدود و ٠/١٢ میلی‌لیتر محلول اسید استیک ٦٠ ٪ توسط یک سرنگ ١ میلی‌لیتری به ناحیه تنه معده تزریق

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-20]

شد. پس از ٤٥ ثانیه اسید خارج و معده توسط سرم فیزیولوژی شستشو داده شد. معده به جای اولیه باز گردانده و سطح شکم بخیه زده شد. موش‌ها در قفس‌های جداگانه قرارگرفتند و با یک رژیم غذایی استاندارد آزمایشگاهی و آب معمولی تغذیه شدند.

درمان باکتریایی و اندازه‌گیری ناحیهٔ زخم گوارشی

یک روز پس از ایجاد زخم معده، گروه‌های تجربی به صورت داخل شکمی با شیر استریلیزه حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم به غلظت 10^{10} cfu/ml یک بار در روز به طریقه گاواژ برای چند روز متوالی تغذیه شدند. گروه‌های کنترل، شیر استریلیزه و کنترل منفی، نرمال سالین به میزان ۱ میلی‌لیتر روزانه توسط سوزن گاواژ دریافت کردند. موش‌ها در روزهای پنجم و چهاردهم پس از ایجاد زخم معده کشته و اندازه‌های زخم (میلی‌متر مربع) در دیواره‌های قدامی و خلفی در هر معده تعیین شد.

نمونه‌ها برای تثبیت در داخل فرمالین ۱۰٪ قرارگرفتند و پس از پاساژ و تهیه برش بافتی با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. سپس مقاطع بافتی از نظر تعداد فیبروبلاست، نوتروفیل و ماکروفاژ در واحد سطح با استفاده از عدسی چشمی مدرج خط‌کش‌دار که بر روی میکروسکوپ نوری وصل می‌شود، بررسی شدند.

روش سنجش بهبودی زخم

بهبود زخم با اندازه‌گیری وسعت زخم و درصد بهبود ارزیابی شد. وسعت زخم در روزهای ۱ ، ٥ و ١٤ با واحد میلی‌متر مربع و 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 معده در روز اول ٦٠٠ میلی‌متر مربع بود. درصد بهبود با استفاده از فرمول زیر به دست آمد:

درصد بهبودزخم = (اندازه زخم در روز اول − اندازه زخم در روز x) / اندازه زخم در روز اول × ١٠٠

روش آماری

چون تعداد گروه‌ها بیش از دو مورد بود، طرح تحلیل واریانس عاملی به کار رفت و نتایج تمام آزمایش‌ها به صورت Mean ± SEM گزارش شد. معیار استنتاج آماری $p<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

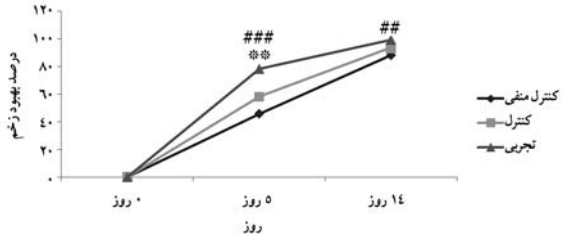
درصد بهبود زخم معده در روز پنجم در گروه کنترل منفی (٤/٢٤٣ ± ٤٥/٧٩)، گروه کنترل (٣/٣٣٠ ± ٥٨/٢٩)، و گروه تجربی (٢/٩٧٤ ± ٧٨/٤٦) بود. در روز چهاردهم درصد بهبود در گروه کنترل منفی (٢/٨٠٠ ± ٨٨/١٣)، گروه کنترل (٢/٢٧٣ ± ٩٣/٧٢) و در گروه تجربی (٠/١٩٤ ± ٩٩/٥٦) به دست آمد (جدول شماره ۱). بررسی درصد بهبود زخم معده نشان داد که گروه تجربی در روز پنجم افزایش معنی‌دار نسبت به گروه‌های کنترل منفی ($p<0/001$) و کنترل ($p<0/01$)، و در روز چهاردهم نسبت به گروه کنترل منفی ($p<0/01$) دارد (نمودار شماره ۱).

جدول شماره ۱- مساحت زخم (میلی‌متر مربع) و درصد بهبود زخم معده در گروه‌های کنترل منفی، کنترل و تجربی

روز	گروه	مساحت زخم معده (میلی‌متر مربع)	درصد بهبود زخم معده
	کنترل منفی	٣٢٥/٣٠ ± ٢٥/٤٦٦	٤٥/٧٩ ± ٤/٢٤٣
٥	کنترل	٢٥٠/٢٨ ± ١٩/٩٧٥	٥٨/٢٩ ± ٣/٣٣٠
	تجربی	١٢٩/٢٠ ± ١٧/٨٤٧	**٧٨/٤٦ ± ٢/٩٧٤ ###
	کنترل منفی	٧١/٢٠ ± ١٦/٨٠٠	٨٨/١٣ ± ٢/٨٠٠
١٤	کنترل	٣٧/٦٨ ± ١٣/٦٤٤	٩٣/٧٢ ± ٢/٢٧٣
	تجربی	٢/٦٠ ± ١/١٦٦	##٩٩/٥٦ ± ٠/١٩٤

(p<٠/٠٠١)### گروه تجربی نسبت به گروه کنترل منفی، (p<٠/٠١)**گروه تجربی نسبت به گروه کنترل، (p<٠/٠١) ## گروه تجربی نسبت به گروه کنترل منفی، سطح معنی‌داری p<٠/٠٥ در نظر گرفته شد

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-20]



نمودار شماره ۱- درصد بهبود زخم معده در روزهای مختلف در سه گروه (p<۰/۰۰۱)### گروه تجربی نسبت به گروه کنترل منفی، (p<۰/۰۱)**گروه تجربی نسبت به گروه کنترل، (p<۰/۰۱) ## گروه تجربی نسبت به گروه کنترل منفی، سطح معنی‌داری p<۰/۰۵ در نظر گرفته شد

کاهش میزان نوتروفیل در گروه تجربی در روز پنجم و چهاردهم نسبت به دو گروه دیگر معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۱). در این روز گروه کنترل نیز نسبت به گروه کنترل منفی افزایش معنی‌دار در تعداد نوتروفیل‌ها داشت(p<۰/۰۵).

تعداد ماکروفاژها در روز پنجم در گروه تجربی نسبت به دو گروه افزایش معنی‌دار (p<۰/۰۰۱) و در روز چهاردهم کاهش معنی‌داری از خود نشان داد (p<۰/۰۰۱). همچنین افزایش ماکروفاژها در گروه کنترل در روز پنجم نسبت به گروه کنترل منفی معنی‌دار بود(p<۰/۰۱) . فزونی تعداد فیبروبلاست‌ها در روز پنجم و کاهش آن‌ها در روز چهاردهم در گروه تجربی نسبت به گروه‌های کنترل و کنترل منفی معنی‌دار بود(p<۰/۰۰۱). میزان این شاخص‌ها در جدول شماره ۲ آمده است.

جدول شماره ۲- شاخص‌های بافت شناسی ترمیم زخم معده در گروه‌های کنترل منفی، کنترل و تجربی

روز	شاخص گروه	نوتروفیل	ماکروفاژ	فیبروبلاست
	کنترل منفی	۹/۸۵ ± ۰/۵۸۶	۱۱/۲۰ ± ۰/۶۶۳	۳/۲۰ ± ۰/۳۳۷
۵	کنترل	*۱۱/۷۵ ± ۰/۴۹۱	*۱۳/۵۵±۰/۶۶۷	۴/۴۵ ± ۰/۳۵۲
	تجربی	###۴/۲۵ ± ۰/۳۹۷ ***	###۲۷/۸۵±۰/۵۵۴ ***	###۱۱/۱۵±۰/۴۴۳ ***
	کنترل منفی	۶/۱۵ ± ۰/۴۱۸	۹/۲۰±۰/۶۷۹	۷/۳۰ ± ۰/۴۴۸
۱۴	کنترل	۵/۷۵ ± ۰/۴۵۲	۸/۷۰±۰/۵۹۰	۷/۹۰ ± ۰/۵۱۸
	تجربی	###۰/۶۰ ± /۱۱۲ ***	###۱/۸۰±۰/۲۰۰ ***	###۱/۹۰±۰/۲۵۰ ***

(p<۰/۰۰۱)### گروه تجربی نسبت به گروه کنترل منفی،(p<۰/۰۰۱)*** گروه تجربی نسبت به گروه کنترل،(p<۰/۰۵)* گروه کنترل نسبت به گروه کنترل منفی، سطح معنی‌داری p<۰/۰۵ در نظر گرفته شد

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات انجام گرفته بر روی پروبیوتیک‌ها گزارش کرده‌اند که ماست حاوی *Lactobacillus gasseri*، فعالیت محافظتی برضد زخم‌های معده حاد ناشی از اسید استیک در موش‌های صحرایی دارد[۱۹] و غنی‌سازی با سویه‌های *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium adolescentis* مانع تشکیل زخم‌های روده شده است.[۲۰و۲۱] این یافته‌ها پیشنهاد می‌کند که *Lactobacillus plantarum* ممکن است بتواند یک درمان جایگزین یا کمکی برای زخم معده باشد.

در مطالعه حاضر نشان داده شد که *Lactobacillus plantarum* جدا شده از پنیر سنتی ایران قادر به تسریع ترمیم زخم معده می‌باشد. تلقیح خوراکی *Lactobacillus plantarum* به مقدار 10^{10} cfu/day برای پنج 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 plantarum* محدود به فاز اولیه نمی‌باشد، بلکه تا مراحل بعدی کامل فرآیند ترمیم ادامه دارد. در این مطالعه چند فاکتور کلیدی که نشان دهنده فاز ترمیم می‌باشند، بررسی شدند.

بررسی مطالعات بافت شناسی در روز پنجم نشان دهنده کاهش معنی‌دار میزان نوتروفیل‌ها در واحد سطح و افزایش ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها بود. همچنین در روز چهاردهم در میزان نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها کاهش معنی‌دار مشاهده شد. نکته قابل توجه مکانیزم‌هایی است که به واسطه آن، این اثرات اعمال می‌شود.

سویه‌های زنده پروبیوتیک مقاومت سلول‌های اپیتلیالی را افزایش می‌دهند، فسفوریلاسیون پروتئین‌های سیتواسکلتون و اتصالات محکم در سلول‌های Caco-2 و HT-29 را تسهیل می‌کنند. همچنین متابولیت‌های پروبیوتیک‌ها رگزایی را القاء می‌کنند، باعث انباشت پروتئوگلیکان‌ها می‌شوند و زخم را ترمیم می‌کنند.[۲۲-۲۵] از

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-20]

مکانیزم‌های مهم و دخیل در ترمیم زخم معده می‌توان به کاهش نسبت مرگ سلولی به تکثیر سلولی[۲۶و۲۷] و افزایش رگ‌زایی[۲۸و۲۹] در غشای مخاطی معده اشاره کرد.

در این فرآیندها افزایش فاکتورهای رشد از قبیل: افزایش بیان پروتئین اورنیتین دکربوکسیلاز (ODC)[۳۰-۳۲] و (Bcl-2)[۳۳]، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor-VEGF) و گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (Epidermal Growth Factor-EGF-r)[۳۴-۳۷] نقش دارند که توسط مطالعه بر روی سویه *Lactobacillus rhomnosus* GG به اثبات رسیده است.

نشان داده شده است که باکتری‌های لاکتیک اسید رهایی سیتوکین‌های پس از التهاب از قبیل TNFα و IL6 در In vitro را القاء می‌کنند و باعث تحریک ایمنی غیر اختصاصی می‌شوند.[۳۸] لاکتوباسیل‌ها باعث فعال‌سازی ماکروفاژها می‌شوند.[۳۹] لاکتوباسیلوس پلانتاروم به طور اختصاصی سنتز IL-10 را افزایش و ترشح ماکروفاژها را افزایش می‌دهد.[۴۰] تأثیر بر فاکتورهای رشدی از قبیل TGFß ، PDGF ، EGF، FGF و سیتوکین‌ها که مهاجرت فیبروبلاست به بافت التیامی و تکثیر آن‌ها را راه‌اندازی می‌کنند،[۴۱-۴۳] از جمله دیگر خصوصیات باکتری‌های لاکتیک اسید می‌باشد.

نتایج این مطالعه نشان دهنده تحریک سیستم ایمنی، هجوم و فعال کردن ماکروفاژها و افزایش فیبروبلاست‌ها در روزهای اولیه، سپس کاهش التهاب و افزایش سنتز کلاژن در روز چهاردهم 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 نسبت به گروه کنترل منفی مشهود می‌باشد.

به علت وجود محصولات پروبیوتیک، ویتامین‌ها و پروتئین در شیر و مخصوصاً کلسیم که اسید معده را خنثی می‌کند، درصد بهبود گروه کنترل نسبت به گروه کنترل منفی افزایش یافته؛ اما زمانی که لاکتوباسیلوس پلانتاروم به شیر افزوده شد، این روند رو به افزایش بیشتری نهاده و اختلاف معنی‌داری نسبت به هر دو گروه نشان می‌دهد.

نتایج حاصل پیشنهاد می‌کند که غنی‌سازی شیر با این سویه می‌تواند در تسریع ترمیم زخم معده مفید باشد. امروزه محصولات لبنی غنی شده با باکتری‌های پروبیوتیک به یکی از موفق‌ترین اقلام صنایع غذایی تبدیل شده است. روزانه میزان وسیعی از این محصولات پروبیوتیک از قبیل ماست‌ها و نوشیدنی‌های پروبیوتیک در اکثر نقاط دنیا تولید می‌شود.[۴۴]

اگرچه 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 casei*، *Lactobacillus johnsonii*، *Lactobacillus rhamnosus* و *Lactobacillus plantarum* که همه دارای منشاء انسانی بوده و با نام‌های تجاری خاص خود در بازار شناخته می‌شوند.[۴۵-۴۹]

نتایج مطالعه فوق بر روی *Lactobacillus plantarum* که یکی از این سویه‌ها بوده و مخصوصاً از محصولات لبنی سنتی ایران جداسازی شده، می‌تواند ایده‌ای موثر در تولید محصولات پروبیوتیک با استفاده از سویه‌های بومی ایران باشد، چرا که سویه‌های بومی ایران با فلور روده‌ای مردم کشورمان سازگارتر بوده و می‌توانند نقش خود را بهتر ایفاء کنند و در درمان زخم معده مفید واقع شوند.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از دانشگاه علوم پزشکی ایران و دانشگاه‌های آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، پرند و دامغان و نیز کلیه کسانی که ما را در این تحقیق یاری نمودند، تقدیر و تشکر می‌شود.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-20]

فهرست منابع

1- Saxelin M, Tynkkynen S, Mattila-Sandholm T, de Vos Willem M. Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. Curr Opin Biotechnol; 2005. 16: 204-11.

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

3- Weizman Z. Effect of probiotic infant formulas on protection from infection in child care centers. BioGaia; 2008. 42: 1-12.

4- Kaur, IP, Garg A, Geetha T, Agrawal R. Entrapment of probiotic bacteria within alginate-hpmc floating beads, their survival and effectiveness against ethanol induced ulcers in rats. Int J Probio & Prebio; 2007. 2(2/3): 141-48.

5- Demirer S, Aydıntug S, Aslım B, Kepenekci I, Sengül N, Evirgen O. Effects of probiotics on radiation-induced intestinal injury in rats. Nutrition; 2009. 22(2): 179-86.

6- Guslandi M, Mezzy G, Sorghi M, Testoni PA. Saccromyces boulardii in maintenance treatment of Crohn's disease. Dig Dis Sci; 2000. 45: 1462-64.

7- Nils-Georg A, Roland M, Lisa N, Torkel W. Probiotics in gastric and intestinal disorders as functional food and medicine. Scand J Nutr; 2004. 48(1): 15-25.

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

9- Schiraldi C, Valli V, Molinaro A, Cartenı M, De Rosa M. Exopolysaccharides production in Lactobacillus bulgaricus and Lactobacillus casei exploiting microfiltration. J Ind Microbiol Biotechnol; 2006. 33: 384-390.

10- Chabot S, Yu HL, Leseleuc L De, Cloutier D. Exopolysaccharides from Lactobacillus rhamnosus RW-9595M stimulate TNF, IL-6 and IL-12 in human and mouse cultured immunocompetant cells, and IFN-g in mouse splenocytes. Lait; 2001. 81: 683-87.

11- Oda M, Hasegawa H, Komatsu S, Kambe M, Tsuchiya F. Antitumor polyaschharide from Lactobacillus sp. Agric Boil Chem; 1983. 47: 1623-25.

12- Nagaoka M, Hashimito S, Watanabe T, Yokokura T, Mori T. Anti-ulcer effects of lacticacid bacteria and their cell wall polysaccharides. Biol Pharm Bull; 1994. 17: 1012-17.

13- Nakajima H, Suzuki Y, Kaizu H, Hirota T. Cholesterol lowering activity of ropy fermented milk. J Food Sci; 1992. 57: 1327-29.

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

15- Emily K, Lam K, Tai W, Koo P, Wong K. Enhancement of gastric mucosal integrity by Lactobacillus rhamnosus GG. Life Sci; 2007. 80(23): 2128-36.

16- Neelima M, Sujatha D, Bharathi K, Kumar A, Koganti P. Evaluation of a probiotic dairy product for antiulcer activity in rats. Int J Probio & Prebio; 2007. 2(2/3): 137-40 .

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

18- Ma L, Chow JY, Cho CH. Cigarette smoking delays ulcer healing: role of constitutive nitric oxide synthase in rat stomach. Am J Physiol Gasterointest Liver Physiol; 1999. 276: G238-G48.

19- Uchida, M., Kurakazu, K. Yogurt containing Lactobacillus gasseri OLL2716 exerts gastroprotective action against acute gastric lesion and antral ulcer in rats. J Pharmacol Sci; 2004. 96: 84-90.

20- Hagiwara M, Kataoka K, Arimochi H, Kuwahara T, Nakayama H, Ohnishi Y. Inhibitory effect of fluvastatin on ileal ulcer formation in rats induced by nonsteroidal anti-inflammatory drug. World J Gastroenterol; 2005. 11(7): 1040-43.

21- Ogueke CC, Owuamanam CI, Ihediohanma NC, Iwouno JO. Probiotics and prebiotics: unfolding prospects for better human health. Pak J Nutr; 2010. 9(9): 833-43.

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

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-20]

23- Gotteland M, Brunser O, Cruchet S. Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by Helicobacter pylori? Aliment Pharmacol & Ther; 2006. 3: 1077-86.

24- Zareie M, Johnson-Henry K, Jury J, Yang PC, Ngan BY, McKay DM, et al. Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. Gut; 2006. 55: 1553-60.

25- Liu GY, Hung YC, Hsu PC, Liao YF, Chang WH, Tsay GJ, et al. Ornithine decarboxylase prevents tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis by decreasing intracellular reactive oxygen species. Apoptosis; 2005. 10: 569-81.

26- Korakli M. Structure/function relationship of homopolysaccharide producing glycansucrases and therapeutic potential of their synthesised glycans. Appl Microbiol Biotechnol ; 2006. 71:790-803.

27- Knipp U, Birkholz S, Kaup W, Opferkuch W. Partial characterization of a cell proliferation-inhibiting protein produced by Helicobacter pylori. Infect Immun; 1996. 64: 3491-96.

28- Ricci V, Ciacci C, Zarrilli R, Sommi P. Effect of Helicobacter pylori on gastric epithelial cell migration and proliferation in vitro: role of VacA and CagA. Infect Immun; 1996. 64: 2829-33.

29- Halper J, Leshin LS, Lewis SJ, Li WI . Wound healing and angiogenic properties of supernatants from Lactobacillus cultures. Exp Biol Medicine; 2003. 228: 1329-37.

30- Resta-Lenert S, Barrett KE. Live probiotics protect intestinal epithelial cells from the effects of infection with enteroinvasive Escherichia coli (EIEC). Gut; 2003. 52: 988-97.

31- McCormack SA, Viar MJ, Johnson LR. Polyamines are necessary for cell migration by a small intestinal crypt cell line. Am J Physiol; 1993. 264: G367–G74.

32- Thomas T, Thomas TJ. Polyamines in cell growth and cell death: molecular mechanisms and therapeutic applications. Cell Mol Life Sci; 2001. 58: 244-58.

33- Ye YN, Liu ES, Shin VY, Koo MW. A mechanistic study of proliferation induced by Angelica sinensis in a normal gastric epithelial cell line. Biochem Pharmacol; 2001. 61: 1439–48.

34- Li Y, Wang HY, Cho CH. Association of heparin with basic fibroblast growth factor, epidermal growth factor, and constitutive nitric oxide synthase on healing of gastric ulcer in rats. J Pharmacol Exp Ther; 1999. 290: 789-96.

35- Ariyama H, Qin B, Baba E, Tanaka R, Mitsugi K. A selective EGFR tyrosine kinase inhibitor, induces apoptosis through activation of Bax in human gallbladder adenocarcinoma cells. J Cell Biochem; 2006. 97: 724-34.

36- Elliott S, Wallace JL, Mcknight W. Bacterial colonization and healing of gastric ulcers: the effects of epidermal growth factor. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol; 2000. 278: G105-G12.

37- Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowski T, Ernst H. Epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha: role in protection and healing of gastric mucosal lesions. Eur J Gastroenterol Hepatol; 1995. 7: 933-37.

38- Pai R, Tarnawski A. Signal transduction cascades triggered by EGF receptor activation: relevance to gastric injury repair and ulcer healing. Dig Dis Sci; 1998. 43: S14-S22.

39- Boirivant, M., Strober,W. The mechanism of action of probiotics. Gastroenterology; 2007. 23(6): 679-92.

40- Cui Y, Wang C, Liu X , Wang X, Chen L, Zhao X, et al. Two stomach-originated lactobacillus strains improve Helicobacter pylori infected murine gastritis. World J Gastroenterol; 2010. 16(4): 445-52.

41- Kitazawa H, Itoh T, Tomioka Y, Mizugaki M, Yamaguchi T. Induction of IFN and IL-1(production in macrophages stimulated with phosphopolysaccharide produced by Lactococcus lactis ssp. cremoris. Int J Food Microbiol; 1999. 31: 99-106.

42- Andrzej S, Tarnawski, M. Cellular and molecular mechanisms of ulcer healing. Uni CA; 2005. 78: 1-12.

43- Yli-Knuuttila H, Snäll J, Kari K, Meurman JH. Colonization of Lactobacillus rhamnosus GG in the oral cavity. Oral Microbiol Immunol; 2006. 21: 129-31.

44- Valdez JC, Peral MC, Rachid M, Santana M, Perdigon G. Interference of Lactobacillus plantarum with Pseudomonas aeruginosa in vitro and in infected burns: the potential use of probiotics in wound treatment. Clin Microbiol Infect; 2005. 11: 472-79.

45- Zwolinska-Wcislo M, Brzozowski T, Mach T,

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-20]

Budak A, Trojanowska D. Are probiotics effective in the treatment of fungal colonization of the gastrointestinal tract? J Physiol & Pharmacol; 2006. 57(9): 35-49.

46- Emily KY, Yu L, Wong PS, Helen WU, William KK, Shin Vivian Y, et al. Probiotic Lactobacillus rhamnosus GG enhances gastric ulcer healing in rats. Eur J Pharmacol; 2007. 565: 171-79.

47- Gabriel V, Gabriela P, Jairo D, Edward F, Chantal M. Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by Lactobacillus kefiranofaciens on the gut mucosal immunity. Cytokine; 2006. 36: 254-60.

48- Prashant R, Chawla I, Bajaj B, Shrikant A. Microbial cellulose: fermentative production and applications. Food Technol Biotechnol; 2009. 47(2): 107-24.

49- Schiraldi CV, Valli A, Molinaro M, Cartenı M, De Rosa. Exopolysaccharides production in Lactobacillus bulgaricus and Lactobacillus casei exploiting microfiltration. J Ind Microbiol Biotechnol; 2006. 33: 384-90.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-20]

The Healing Effect of Lactobacillus plantarum Isolated from Iranian Traditional Cheese on Acetic Acid Induced Gastric Ulcer in Rats

***H. Aboutalebi, MSc[I] M. Heydari Nasrabadi, PhD[II] M. Tajabadi Ebrahimi, PhD[III] M. Shabani, PhD[IV] F. Zahedi, MSc[V]**

Abstract

Background: Probiotics are defined as "living organisms which upon ingestion in certain numbers, exert health benefits beyond inherent basic nutrition". One of the most significant groups of probiotic organisms are the lactic acid bacteria, commonly used in fermented dairy products. The actions of lactic acid bacteria are species and strain specific and depend on sufficient numbers of bacteria being available in the intestine. The difficulty in identifying and classifying strains has complicated researches, since benefits may only pertain to particular strains. The aim of the present study is to investigate the effect of a probiotic strain *Lactobacillus plantarum* isolated from Iranian traditional cheese on gastric ulcer healing.

Methods: In this experimental study 22 strains of lactic acid bacteria isolated from Iranian traditional cheese were investigated for Exopolysaccharide (EPS) production by phenol-sulfuric acid method which had been approved earlier for the ability of survival and growth in digestive system. To determine the effect of this probiotic strain, male wistar rats were divided into 3 groups; experimental, control and negative control. Rats were deprived of food but not water for 24 hours and gastric ulcers were induced by luminal application of 0.12 ml acetic acid solution (60% v/v). One day after ulcer induction, the experimental groups received sterilized milk with *Lactobacillus plantarum* at concentration of 1×10^{10}cfu/day, the control groups received sterilized milk and the negative control groups received normal saline through oral gavage for few consecutive days. Rats were sacrificed on days 5 and 14 after ulcer induction and the ulcer sizes (mm^2) were summed. After histological study the effect of this probiotic on gastric ulcer healing was determined in each stomach. Data were analyzed with One way ANOVA test and all results were reported as Mean ± SEM.

Results: *Lactobacillus plantarum* significantly decreased gastric ulcer area compared to control and negative control groups and increased ulcer healing. Histological study on day 5 after ulcer induction showed significant reduction in number of neutrophils and significant increases in macrophages and fibroblasts ($p<0.001$). Also significant reduction in the number of neutrophils, macrophages and fibroblasts was observed on day 14 after ulcer induction ($p<0.001$).

Conclusion: *Lactobacillus plantarum* showed significant effects on gastric ulcer healing induced by acetic acid in rats.

Keywords: 1) Probiotics *2*) Lactobacillus plantarum 3) Gastric ulcer 4) Healing

This article is a summary of the thesis by H. Aboutalebi for the degree of MSc in Cellular and Developmental Biology under supervision of M. Heydari Nasrabadi, PhD and consultation with M. Tajabadi Ebrahimi, PhD and M. Shabani, PhD (2010).

*I) MSc in Cellular and Developmental Biology, Department of Cellular and Developmental Biology, Islamic Azad University of Damghan, Damghan, Iran (*Corresponding Author)*

II) Assistant Professor of Cellular and Developmental Biology, Department of Biology, Islamic Azad University of Parand, Tehran, Iran

III) Assistant Professor of Microbiology, Department of Microbiology, Islamic Azad University of Tehran Central, Tehran, Iran

IV) Associate Professor of Biochemistry, Department of Biochemistry, Iran University of Medical Science and Health Services, Tehran, Iran

V) MSc in Cellular and Developmental Biology, Department of Cellular and Developmental Biology, Islamic Azad University of Damghan, Damghan, Iran

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-07-20]