مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هفدهم، شماره ۶، خرداد ۱۳۹۴، صفحه ۲۵-۱۹

تاثیر مصرف شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس بر آسیب شناسی بافتی و شاخص های سرمی آسیب بافت کبد در رت های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

علی قربانی رنجبری (DVM)*[۱]، روزیتا بهادری (MD)[۱]، رخساره مریدی (MD)[۱]

۱-باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحدکازرون

دریافت: ۹۳/۵/۲۸، اصلاح:۹۳/۷/۲، پذیرش:۹۳/۱۱/۱۵

خلاصه

سابقه و هدف: بیماری دیابت به عنوان یکی از عوامل اصلی شیوع اختلالات کبدی شناخته شده است. لذا هدف از مطالعه حاضر ارزیابی آسیب کبد در دیابت ملیتوس و بررسی اثرات محافظتی شیرحاوی لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس در موش های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین می باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی، ۶۰ سر موش صحرایی نر به طور تصادفی به ۶ گروه ۱۰ عددی گروه شاهد سالم، گروه دیابتی، گروه های سالم تیمار شده به ترتیب با ۱۰ و ۲۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، گروه های دیابتی تیمار شده به ترتیب با ۱۰ و ۲۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تقسیم شدند. پس از گذشت ۶۰ روز از آزمایش نمونه خون ناشتا مستقیم از قلب رت ها جهت آزمایش سطوح سرمی آلانین آمینوترانسفراز(ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز(AST)، آلکالین فسفاتاز(ALP)، آلبومین و بیلی روبین تام اخذ گردید. برای آسیب شناسی بافت کبد نیز برش هایی با رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، طبق روش های معمول تهیه مقاطع هیستوپاتولوژی تهیه گردید.

یافته‌ها: موش های صحرایی دیابتی افزایش معنی دار شاخص های سرمی آسیب بافت کبد را در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند ($p\leq ۰/۰۵$). در حالی که در گروه دیابتی تیمار شده با شیرحاوی لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس، این شاخص ها در مقایسه با گروه دیابتی به طور معنی داری کاهش نشان داد ($p\leq ۰/۰۵$). کمترین میزان ALT، AST و ALP در گروه دیابتی تیمار شده با۲۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به ترتیب برابر با ۶/۵±۷۸، ۳/۴±۲۰۵ و ۱/۹±۱۶۸ مشخص گردید. یافته های آسیب شناسی کبد در توافق با نتایج بیوشیمیایی سرم نشانگر بهبود ساختار بافت آسیب دیده کبد در موش های دیابتی بود.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد شیرحاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دارای اثرات محافظتی از بافت کبد در دیابت القاء شده با استرپتوزوتوسین می باشد.

واژه های کلیدی: دیابت، کبد، لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس، آنزیم های کبدی، استرپتوزوتوسین.

مقدمه

فاکتورهای ژنتیکی متفاوتی منجر به دیابت نوع یک و دیابت ملیتوس نوع دو می‌گردند. با این حال هر کدام از آنها مستعد بروز عوارضی مانند نفروپاتی، رتینوپاتی اعصاب محیطی و افزایش فشار خون هستند (۲و۱). بیماری دیابت به عنوان یکی از عوامل اصلی شیوع اختلالات کبدی در ایالت متحده آمریکا محسوب می شود. بسیاری از تحقیقات نشان می دهند که بیماری کبد یکی از علل مهم مرگ و میر در دیابت تیپ دو می باشد(۳). از این رو شیوع بالای بیماری های کبدی در بیماران دیابتی و نیز بروز دیابت در بیماران کبدی گزارش شده است. به نظر می رسد که بروز بیماری های کبدی بیشتر در دیابت نوع دو اتفاق می افتد که عوارضی همچون غیر الکلی، سیروز، کارسینومای سلول های کبدی و نارسایی حاد کبدی را در بر دارد (۴). افزایش خفیف ترانس آمینازها اغلب در بیماران دیابتی تیپ دو وجود دارد. علاوه بر آن، برای کنترل عوارض کبدی دیابت اقداماتی نظیر همودیالیز یا فوتوکوآگولاسیون شبکیه موجود نمی باشد. بنابراین، با وجود اینکه عوارض کبدی دیابت کمتر معمول می باشد، ولی می توان آنرا در کنار عوارضی همچون گلومروپاتی، رتینوپاتی و نفروپاتی قرار داد. آزمایشات سالانه برای مشخص شدن بیماری کبد می تواند به وسیله آنالیزهای بیوشیمیایی ساده مثل آلانین آمینوترانسفراز انجام شود(۵). استرس اکسیداتیو به تازگی به عنوان یکی از سازکارهای دخیل در دیابت میلیتوس و عوارض ناشی از آن مطرح شده است(۶).

* مسئول مقاله: دکتر علی قربانی رنجبری
آدرس: شیراز، دانشگاه ازاد اسلامی واحد کازرون، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان. تلفن:۰۷۱-۴۲۲۴۳۹۲۱
E-mail:dr_alighorbani87@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.19]

رادیکال های آزاد به طور مستمر در بدن در نتیجه فرآیندهای طبیعی متابولیک و تعامل با محرک های محیطی تولید می شوند. در شرایط فیزیولوژیک، طیف وسیعی از دفاع آنتی اکسیدانی علیه اثرات مضر ناشی از فرآورده های رادیکالهای آزاد در بدن موجود زنده وجود دارد(۶).

استرس اکسیداتیو از عدم تعادل بین تولید گونه های باز فعال اکسیژن (ROS) و عوامل آنتی اکسیدان که سبب پاکسازی و حذف ROS هستند، ایجاد می شود. به عنوان مثال افزایش تولید ROS یا کاهش عوامل آنتی اکسیدان و یا تغییرات هر دوی آنها می تواند منجر به استرس اکسیداتیو گردد. در دیابت، گلیکاسیون پروتئینی و اتوکسیداسیون گلوکز می تواند رادیکال های آزد تولید کند که به نوبه خود باعث کاتالیز پراکسیداسیون لیپیدی می شوند(۷و۸). به علاوه، در دیابت بروز اختلالات سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی اعم از تغییر در آنزیم های آنتی اکسیدان (۹) اختلال در متابولیسم گلوتاتیون (۱۰)، و کاهش سطوح اسید اسکوربیک نشان داده شده است (۱۲و۱۱).

تا به حال، افزایش استرس اکسیداتیو در محیط زنده به وضوح نشان داده نشده است. با این وجود، چندین مطالعه بر روی انسان و مدل های حیوانی که روش TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) استفاده شده، افزایش پراکسیداسیون لیپید در غشا و لیپوپروتئین را در دیابت نشان داده است (۱۸-۱۳). Feillet-Coudray و همکارانش وضعیت آنتی اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی بافت کبد را در دیابت تجربی مورد مطالعه قرار داده اند (۱۹). در مطالعه ای دیگر، نشان داده شده است که، عوامل ضد دیابتی می توانند سطوح بیومارکرهای سرمی شاخص آسیب کبد را کاهش دهند(۲۰). اما این عوامل می توانند اثرات جانبی شدیدی به همراه داشته باشند(۲۱). در سال های اخیر میل به استفاده از باکتری های مفیدی به نام پروبیوتیک ها به عنوان یک رژیم کمکی در صنایع غذایی روبه رشد بوده است (۲۲). پس از مصرف مقدار کافی از پروبیوتیکها، اعمال اثرات مفیدی بر روی جمعیت میکروبی طبیعی دستگاه گوارش مشاهده می شود. رایج ترین باکتری های پروبیوتیک شامل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم است (۲۳).

بر پایه مطالعات گوناگون حیوانی و انسانی، پروبیوتیک ها در سطوح چندگانه در تنظیم کاهش میانجی های التهابی اندوژن عمل می کنند. مهمترین مسیر ها عبارت از: تنظیم سیستم ایمنی، تعدیل فلور روده، بهبود اتصالات محکم دیواره روده، کاهش نفوذ پذیری عوامل بیماری زا به گردش خون بدن و فعالیت ضد فیبروزی و ضد التهابی است (۲۴). در حال حاضر درمان دارویی قطعی برای کبد چرب غیر الکلی (NAFID) وجود ندارد. اثر بخشی پروبیوتیک ها در چند مدل تجربی NAFLD/NASH گزارش شده است.

در مطالعه ای بر روی موش های ob/ob تحت رژیم با چربی بالا مشاهده شد که دستکاری فلور روده این مدل تجربی بر بیماری کبد چرب ناشی از چاقی اثر می گذارد. در واقع پروبیوتیک VSH# 3 باعث بهبود هیستولوژی کبد، کاهش چربی تام کبد و کاهش سطوح سرمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) می شود(۲۵). در پژوهش دیگری، پروبیوتیک VSH# 3 توانست پرو فایل لیپیدی را اصلاح و التهاب، آسیب اکسیداتیو و سطوح بافتی TNF- را کاهش دهد(۲۶). تاکنون مطالعات محدودی اثر پروبیوتیک در درمان NAFID در انسان را بررسی کرده اند. در پژوهشی، مصرف روزانه مکمل پروبیوتیک به مدت سه ماه باعث کاهش سطوح سرمی آنزیم های کبدی (ALT، AST و گاما گلوتامیل ترانس پپتیداز GGT) شد(۲۷). با توجه به اثرات مفید پروبیوتیک ها و توانایی آنها در پایین آوردن میزان آنزیم های کبدی و میزان گلوکز، تاثیر شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر بهبود وضعیت کبد در دیابت دور از انتظار نیست. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات محافظتی شیرحاوی لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس در موش های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین می باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی بر روی ۶۰ سر موش رت نر با وزن تقریبی ۲۲۰-۱۹۰ گرم، نژاد ویستار که به طور تصادفی به ۶ گروه ۱۰ عددی گروه شاهد سالم، گروه دیابتی، گروه سالم تیمار با ۲۰ و ۱۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، گروه دیابتی تیمار با ۲۰ و ۱۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، تقسیم شدند، انجام گردید.

جهت تولید شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در گروه های تیمار، طبق روش مک فارلند لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به تعدادی تلقیح می شود که روزانه به طور میانگین در رت های تیمار شده با ۱۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس 10^6 CFU باکتری توسط هریک از رت ها مصرف می شود و در گروه های ۲۰ درصد به میزان 10^{12} CFU باکتری توسط هر یک از رت ها مصرف می شود (۲۸). موشها برای سازگاری با محیط جدید، قبل از شروع مطالعه به مدت یک هفته در قفس های مخصوص در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. همچنین رت های همه گروه ها به مدت ۶۰ روز به همراه آب ۲۵ درصد شیر دریافت نمودند.

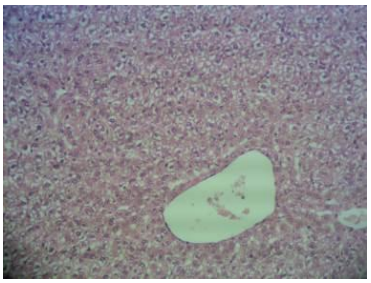
برای دیابتی کردن موش ها، استرپتوزوسین (ساخت شرکت سیگما) با تک دوز ۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تزریق شد. بعد از ۱۸ ساعت حیوانات ناشتا با سطح گلوکز خون بیشتر از (۱۶/۵ mmol/L) دیابتی در نظر گرفته شده و در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند(۲۹). از زمان شروع آزمایش، موش های تیمار به مدت ۶۰ روز شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را به میزان ۱۰ و ۲۰ درصد آب مصرف نمودند، پس از گذشت ۶۰ روز از آزمایش نمونه خون ناشتا مستقیم از قلب رت ها اخذ گردید و برای ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس سانتریفوژ شده (سانتریفوژ مدل EBA21 ساخت هتیش Hettich آلمان) و سرم آن جداسازی شد. بیومارکرهای سرمی فعالیت کبد شامل ALT، AST، ALP، بیلی روبین تام و آلبومین (۳۳-۳۰) با استفاده از کیت های تجاری موجود (کیت پارس آزمون) اندازه گیری شدند.

پس از آسان کشی موش ها توسط دوز بالای ماده بیهوشی (کتامین)، کبد موش ها خارج و نمونه گیری بافتی انجام و پس از پایدارسازی در فرمالین بافر ۱۰ درصد و قالب گیری در پارافین برش هایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و مقاطع هیستوپاتولوژیک با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین تهیه گردید. از میکروسکوپ نوری NIKON مدل ECLIPSE E200 برای بررسی تغییرات بافتی استفاده شد. نتایج داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۷ و آزمونهای آماری Anova Test شامل(Tukey، Sheffe، Duncan) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $p\leq ۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

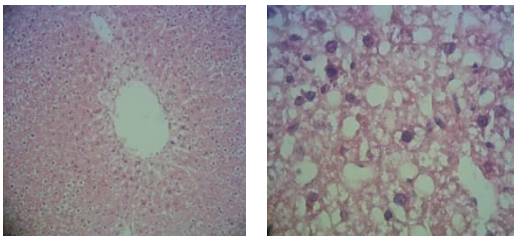
[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.19]

یافته ها

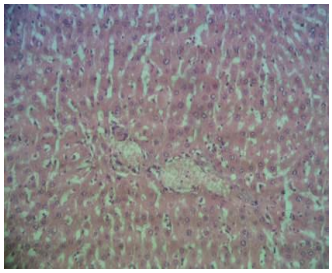
مقادیر سرمی ALT، ALP، AST و بیلی روبین تام در گروه دیابتی در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی داری داشت (p≤۰/۰۵). پارامتر های ذکر شده در گروه های تیمار دیابتی به طور معنی داری در مقایسه با گروه دیابتی کاهش یافته بود(p≤۰/۰۵). و کمترین میزان آنزیم های کبدی (ALT، ALP وAST) در گروه دیابتی دریافت کننده ۲۰ درصد شیرحاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نسبت به دیگر گروه های دیابتی به ترتیب برابر با ۶/۵±۷۸، ۳/۴±۲۰۵ و ۱/۹±۱۶۸ مشاهده گردید (p≤۰/۰۵) (جدول ۱). سطح سرمی آلبومین در گروه دیابتی به طور معنی داری در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته بود و این پارامتر در گروه دیابتی تیمارشده با ۲۰ و ۱۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در مقایسه با گروه دیابتی به طور معنی داری افزایش یافته بود (p≤۰/۰۵). تیمار با ۲۰ و ۱۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در گروه سالم هیچ گونه تغییر معنی داری در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نکرد هرچند باعث کاهش جزئی آنزیم های کبدی (ALT، ALP وAST) و بیلی روبین تام شد. در آسیب شناسی بافتی کبد از گروه شاهد، بافت کبد کاملا سالم و طبیعی بود (شکل ۱). در گروه سالم تیمار با ۲۰ و ۱۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در بافت کبد هیچگونه تغییر پاتولوژیکی خاصی ایجاد نشده بود. اما در گروه دیابتی تغییر چربی کاملا مشخص در نواحی مرکز لوبولی ایجاد شده بود (شکل ۲). در بافت کبد گروه های دیابتی تحت درمان با ۲۰ و ۱۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس هیچگونه تغییر پاتولوژیکی خاصی مشاهده نگردید (شکل ۳ و ۴).



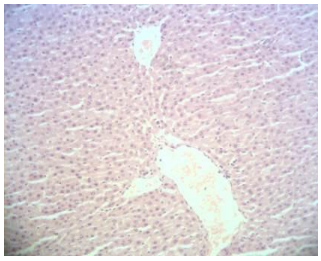
شکل۱. نمای ریزبینی از بافت کبد یک موش صحرایی متعلق به گروه شاهد. ساختار بافت کبد کاملا سالم می باشد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بزرگ نمایی ۴۰×)



شکل۲. نمای ریزبینی از بافت کبد یک موش صحرایی متعلق به گروه دیابتی. تغییر چربی هپاتوسیت در نواحی مرکز لبولی کبد به صورت ماکرو ویزیکول های انباشته از چربی مشاهده می شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بزرگ نمایی× ۴۰ و× ۱۰۰)



شکل۳. نمای ریزبینی از بافت کبد یک موش صحرایی متعلق به گروه دیابتی دریافت کننده ۱۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیوفیلوس. ساختار بافت کبد کاملا سالم می باشد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بزرگ نمایی× ۴۰)



شکل۴. نمای ریزبینی از بافت کبد یک موش صحرایی متعلق به گروه دیابتی دریافت کننده ۲۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیوفیلوس. ساختار بافت کبد کاملا سالم می باشد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بزرگ نمایی× ۴۰)

جدول ۱. مقایسه تاثیر شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس برشاخص های سرمی آسیب بافت کبد در موش های صحرایی مورد مطالعه

گروه‌های مورد پژوهش	AST (U/L) Mean±SD	ALP (U/L) Mean±SD	ALT (U/L) Mean±SD	بیلی روبین تام (Mg/dl) Mean±SD	آلبومین (g/dl) Mean±SD
گروه شاهد سالم	۱۶۰±۳/۲	۱۹۰±۳/۵	۷۶±۲/۴	۰/۸۲±۰/۰۴	۴/۳۸±۰/۳۲
گروه دیابتی	۲۲۰±۲/۷	۲۷۵±۳/۲	۱۴۸±۵/۴	۱/۱۶±۰/۰۶	۳/۱۲±۰/۲۵
گروه سالم تیمار با ۱۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۱۵۴±۳/۲	۲۰۵±۵/۴	۷۸±۱/۲	۰/۸±۰/۰۷	۴/۳±۰/۴
گروه سالم تیمار با ۲۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۱۴۸±۵/۲	۲۰۱±۲/۳	۷۵±۲/۳	۰/۷۹±۰/۰۷	۴/۳±۰/۵۶
گروه دیابتی تیمار با ۱۰درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۱۷۰±۳/۶•	۲۱۹±۴/۳•	۷۹±۳/۱*	۰/۸۶±۰/۰۵•	۴/۱۵±۰/۳•
گروه دیابتی تیمار با۲۰ درصد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۱۶۸±۱/۹*	۲۰۵±۳/۴•	۷۸±۶/۵•	۰/۸۴±۰/۰۲•	۴/۲۹±۰/۳۵•

-هر یک از مقادیر نشان دهنده خطای معیار میانگین ± میانگین غلظت پلاسمایی ALT، AST، ALP (U/L)

-هر یک از مقادیر نشان دهنده خطای معیار میانگین ± میانگین غلظت پلاسمایی آلبومین (g/dl)

-هر یک از مقادیر نشان دهنده خطای معیار میانگین ± میانگین غلظت پلاسمایی بیلی روبین تام (Mg/dl)

علامت * نشان دهنده اختلاف معنادار (p≤۰/۰۵) بین گروه های دیابتی تیمار شده باشیر حاوی لاکتوباسیلوس وگروه کنترل دیابتی

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.19]

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه، کاهش قابل ملاحظه سطح آلبومین سرمی و افزایش شاخص های آسیب های کبدی (ALT، ALP وAST) نشانگر آسیب سلول های های کبدی در دیابت تجربی می باشد. این نتیجه با یافته های Rammesh و همکاران در سال ۲۰۰۷ مطابقت دارد (۳۵). افراد مبتلا به دیابت تیپ ۲ از ناهنجاری مارکرهای کبدی بیشتری نسبت به افراد بدون دیابت بر خوردار هستند (۲۰) که این یافته نیز با نتایج ما همخوانی دارد. یافته های حاضر همچنین نشان داد که مصرف روزانه شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به طور قابل ملاحظه ای وضعیت بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژی کبد موش های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین را بهبود می بخشد. اختلال در یکپارچگی غشاء پلاسمایی سلولهای کبدی باعث می شود، آنزیم هایی که به طور طبیعی در داخل سیتوزول قرار دارند، وارد جریان خون شوند که بهترین شاخص برای مطالعه وضعیت کبدی است (۳۶). استرپتوزوتوسین علاوه بر اثرات مخرب و سمی بر سلول های بتای لوزالمعده بر سایر اندام ها مانند کبد اثر تخریبی دارد همچنین به واسطه استرس اکسیداتیو آثار مخربی برکبد می گذارد؛ لذا کاهش میزان آلبومین در گروه های دیابتی شده با استرپتوزسین قابل توجیه است (۳۸و۳۷). این کاهش دلالت بر این دارد که کبد قادر بر سنتز این فاکتور ها نیست(۳۷).

اکثر مطالعات حیوانی که اثر پروبیوتیک ها را در NAFID مورد بررسی قرار دادند، گزارش کرده اند که پروبیوتیک ها می توانند باعث اصلاح شاخص های مرتبط با NAFID و شاخص های التهابی مانند فعالیت NF-KB و ترشح TNF-α شوند (۳۹و۳۸). همچنین مطالعه Li و همکاران اثر پروبیوتیک VSL#3 را در مدل های تجربی کبد چرب ایجاد شده در اثر رژیم غذایی غنی از چربی بررسی و گزارش کردند که VSL#3 مشابه آنتی بادی ضد TNF-α باعث بهبود هیستولوژی کبدی، کاهش مقادیر اسید چرب تام کبدی و سطوح سرمی ALT سرم می شود (۲۵) که تمامی مطالعات ذکر شده نتایج حاصل را تایید می نماید. بررسی هیستولوژی بافت کبد، نشان دهنده بروز تغییر چربی در قسمت های مرکز لبولی کبد در موش های دیابتی است. Rammesh و همکاران در سال ۲۰۰۷ تاثیر مثبت محافظت از سلولهای کبدی در موش دیابتی تجربی توسط استرپتوزوتوسین را گزارش کردند که نتایج حاضر با یافته های ایشان مطابقت دارد (۳۵). در مطالعه ما طی مصرف شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در موش های صحرایی دیابتی هیچگونه تغییر چربی قابل ملاحظه ای مشاهده نشد که این پدیده اثر محافظتی شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را در برابر عوارض کبدی دیابت نشان می دهد همچنین، یافته های پاتولوژی در این مطالعه با نتایج بیوشیمیایی به دست آمده تطابق دارد. در مجموع، در مطالعه حاضر مشخص شد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با کاهش بیومارکرهای سرمی آسیب کبد و نیز کاهش آسیب بافتی عملکرد این ارگان را در موش های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بهبود می بخشد. نتایج این مطالعه نشان داد شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دارای اثرات محافظت از بافت کبد در دیابت القاء شده با استرپتوزوتوسین می‌باشد. از آنجا که مکانیسم این عمل به خوبی مشخص نشده است انجام مطالعات بیشتر بخصوص ارزیابی تغییرات TNF-α و مکانیسم محافظتی شیر حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس پیشنهاد می گردد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از بخش پژوهشی و ریاست بیمارستان شهید بهشتی شیراز و معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، آقای دکتر محمد حسین مرحمتی زاده جهت همکاری تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.19]

The Study of Milk Containing Lactobacillus Acidophilus on Histological and Serum Markers of Liver Tissue Injury in Streptozotoc-3

A. Ghorbani Ranjbary (DVM)[*1], R. Bahadori (MD)[1], R. Moridi (MD)[1]

1.Young Researchers and Elite Club, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 17(6); Jun 2015; PP: 19-25

Received: Aug 19th 2014, Revised: Sep 24th 2014, Accepted: Feb 4th 2015.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Diabetes is known as one the leading causes of hepatic disorders. The aim of this study was to assess the liver damage in diabetes mellitus and the protective effect of milk containing Lactobacillus acidophilus (LA) in rats with diabetes induced by streptozotocin.

METHODS: In this experimental study, 60 male Wistar rats were randomly divided into 6 groups including: control diabetic, normal treated with 10 and 20% milk containing LA, and diabetic rats treated with 10 and 20 percent of milk containing LA. After 60 days fasting, blood samples were obtained directly from cardiac puncture and serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin, and albumin were tested. Histopathology of liver sections stained with H & E histological sectioning was prepared according to conventional methods.

FINDINGS: In diabetic rats, increase in serum liver enzymes, showed significant damage compared to the control group ($p \leq 0/05$). While in the diabetic group treated with milk containing LA, these indicators when compared to diabetic group was significantly lower ($p \leq 0.05$). The lowest level of ALT, AST and ALT in diabetic rats treated with 20% milk containing LA was 78±6.5, 205±3.4 and 168±1.9, respectively. Histopathologic findings were in agreement with the results of serum biochemical markers confirmed the repair of hepatic damage in the diabetic rats after intervention.

CONCLUSION: This study showed that milk containing LA has a protective effect on the liver of rats with streptozotocin-induced diabetes.

KEY WORDS: *Diabetes, Hepatic, Lactobacillus Acidophilus, Liver enzymes, Streptozotocin.*

Please cite this article as follows:

Ghorbani Ranjbary A, Bahadori R, Moridi R. The Study of Milk Containing Lactobacillus Acidophilus on Histological and Serum Markers of Liver Tissue Injury in Streptozotoc-3. J Babol Univ Med Sci. 2015;17(6):19-25.

* **Corresponding Author; A. Ghorbani Ranjbary(DVM)**
Address: Young Researchers and Elite Club, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, I.R.Iran
Tel: +98 71 42243921
E-mail: dr_alighorbani87@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.19]

References

1. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care. 2004;27(5):1047-53.
2. Tsai S, Shameli A, Santamaria P. CD8+ T cells in type 1 diabetes. Adv Immunol. 2008;100:79-124.
3. de Marco R, Locatelli F, Zoppini G, Veralato G, Bonora E, Muggeo M. Cause-specific mortality in type 2 diabetes: The Verona Diabetes Stuyb. Diabetes Care. 1999;22(5):756-61.
4. Tolman KG, Fonseca V, Dalpiaz A, Tan MH. Spectrum of liver disease in type 2 diabetes and management of patients with diabetes and liver disease. Diabetes Care. 2007;30(3):734-43.
5. Atthyros VG, Mikhailidis DP, Didangelos TP, Giouleme OI, Liberopoulos EN, Karagiannis A, et al. Effect of multifactorial treatment on nonalcoholic fatty liver disease in metabolic syndrome: a randomised study. Curr Med Res Opin. 2006;22(5):873-83.
6. Halliwell B, Gutteridge J. Free radicals in biology and medicine (2nd ed.), Clarendon Press Oxford 1989.
7. Baynes JW. Role of oxidative stress in the development of complications in diabetes. Diabetes. 1991;40(4):405-12.
8. Mullarkey CJ, Edelstein D, Brownlee L. Free radical generation by early glycation products: a mechanism for accelerated atherogenesis in diabetes. Biochem Biophys Res Commum. 1990;173(3):932-9.
9. Strain JJ. Disturbances of micronutriment and antioxidant status in diabetes. Proc Nutr Soc 1991; 50:591.
10. McLennan SV, Heffernen S, Wright L, Rae C, Fisher E, Yue DK, et al. Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes. Diabetes. 1991; 40: 344-348.
11. Jennimgs PE, Chirico S, Jones AF, Lunec J, Barnett AH. Vitamin C metabolites and microangiopathy in diabetes mellitus. Diab Res. 1987;6(3):151-4.
12. Young IS, Torney JJ, Trimble ER. The effect of ascorbate supplementation on oxidative stress in the streptozotocin diabetic rat. Free Rad Biol Med. 1992;13(1):41-6.
13. Griesmacher A, Kindhauser M, Andert SE, Schreiner W, Toma C, Knoebl P, et al. Enhanced serum levels of thiobarbituric acid-reactive substances in diabetes mellitus. Am J Med. 1995;98:469-75.
14. Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K, Kalra J. Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. J Clin Sci(Lond). 1998;94(6):623-32.
15. MacRury SM, Gordon D, Wilson R, Bradley H, Gemmell CG, Paterson JR, et al. A comparison of different methods of assessing free radical diabetes and peripheral vascular disease. Diabet Med. 1993;10(4):331-5.
16. Niskanen Lk, Salonen JT, Nyssonen K, Uusitupa MI. Plasma lipid peroxidation and hyperglycemia: aconnection through hyperinsulinaemia?. Diabet Med. 1995;12(9):802-8.
17. Sundaram RK, Bhaskar A,Vijayalingam S, Viswanatthan M, Mohan R, Shaninugasundaram KR. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications. Clin Sci(Lond). 1996;90(4):255-60.
18. Velazques B, Winocour PH, Kesteven P, Alberti KGMM, Lakeer MF. Relation of lipid peroxides to macrovascular disease in type 2 diabetes. Diabet Med. 1991;8(8):752-8.
19. Feillet-Coudray C, Rock E, Coudry C, Grzelkowska K, Azias-Braesco V, Dardevet D, et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. Clin Chim Acta. 1999;284(1):31-43.
20. Harris EH. Elevated liver function tests type 2 diabetes. Clin Diabetes. 2005;23(3):115-9.
21. Akhtar MS, Iqbal J. Evaluation of the hypoglycemic effect of achyranthes aspera in normal and alloxan diabetic rabbits. J Ethnopharmacol. 1991;31(1):49-57.
22. Ferdowsifard M, Fazeli M, Samadi N, Jamalifar H. The stability of fermrnted and Nom-fermented probiotic milk produced by three species of Autochthonous Lactobacillus. J Food Technol Nutr. 2011;8(4):13-20.
23. Ershidat OTM, Mazahreh AS. Probiotics bacteria in fermented dairy products. Pakistan J Nutr. 2009;8(7):1107-13.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.19]

24. Iacono A, Raso GM, Canani RB, Calignano A, Meli R. Probiotics as an emerging therapeutic strategy to treat NAFLD: focus on molecular and biochemical mechanisms. J Nutr Biochem. 2011;22(8):699-711.
25. Li Z, Yang S, Lin H, Huang J, Watkins PA, Moser AB, et al. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2003;37(2):343-50.
26. Esposito E, Iacon A, Bianco G, Autore G, Cuzzocrea S, Vajro P, et al. Probiotics Reduce the inflammatory response induced by a high-fat diet in the liver of young rats. J Nutr. 2009;139(5):905-11.
27. Aller R, De Luis DA, Izaola O, Conde R, Gonzalez Sagrado M, Primo D, et al. Effect of a probiotic on liver aminotransferases in nonalcoholic fatty liver disease patients: a double blind randomized clinical trial. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2011;15(9):1090-5.
28. Tabuchi M, Ozaki M, Tamura A, Yamada N, Ishida T, Hosoda M, et al. Antidiabetic effect of Lactobacillus GG in streptozotocin-induced diabetic rats. Biosci Biotechnol Biochem. 2003;67(6):1421-4.
29. Eddouks M, Maghrani M, Michel JB. Hypoglycaemic effect of Triticum repens P. Beauv. In normal and diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2005; 102(2): 228-32.
30. Kind PR, King EJ. Estimation of plasma phosphates by determination of hydrolyzed phenol with antipyrin. J Clin Pathol. 1954;7(4):322-6.
31. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951;193(1):265-75.
32. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem. 1937; 119(2):481-90.
33. Reitman S, Frankel S. A Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol. 1957;28(1):56-63.
34. Norusis MJ. SPSS for windows: base system user's guide release 6.0. 1st ed. Chicago:SPSS Inc. 1993.p.281-90.
35. Remmesh B, Viswanathan P, Pugalendi KV. Protective effect of Umbelliferone on membranous fatty acid composition in streptozotocin-induced diabetic rats. Eur J Pharmacol. 2007;566(1-3):231-9.
36. Drotman R, Lawhan G. Serum enzymes are indications of chemical induced liver damage. Drug Chem Toxicol, 1978;1(2): 163-71.
37. Oyedemi SO, Bradly G, Afolayan AJ. Benefcial effect of aqueous stem bark extract of strychnos henningsii Gilg in Streptozotocin-nicotinamid induced type 1 diabetic Wistar rats. Int J Pharm. 2011;7(7):773-81.
38. Kume E, Fujimura H, Matsuki N, Ito M, Aruga C, Toriumi W, et al. Hepatic changes in the acute phase of streptozotocin induced diabetes in mice. Exp Toxic Pathol. 2004;55(6):467-80.
39. Nardone G, Compare D, Liguori E, Di Mauro V, Rocco A, Barone M, et al. Protective effects of Lactobacillus paracasei F19 in a rat model of oxidative and metabolic hepatic injury. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2010;299(3):G669-76.
40. Ma X, Hua J, Li Z. Probiotics improve high fat diet induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells. J Hepatol. 2008;49(5):821-30.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.6.3.0]
[DOI: 10.22088/jbums.17.6.19]