

## The Effect of Iran Probiotic Fermented Milk Beverage on Cholesterol and Liver Function Biomarkers of Rat

Received: 13 January 2015

Revised: 25 April 2015

Accepted: 9 May 2015

### ABSTRACT

Seyed Amin Mousavinejad<sup>1</sup>

Parvaneh Jafari<sup>2</sup>

Maryam Tajabadi Ebrahimi<sup>3</sup>

Reza Zilabi<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>M.A., Microbiology, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Tehran Sciences and Researches Branch, Tehran, Iran.

<sup>2</sup>Assistant Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Arak Branch, Arak, Iran.

<sup>3</sup>Assistant Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Central Branch of Tehran, Tehran, Iran.

<sup>4</sup>M.D., University of Police Sciences, Southern West Branch, Ahvaz, Iran.

**Background:** The aim of this study was to determine the effect of probiotic fermented milk beverage on lowering cholesterol level and liver function biomarkers in male Wistar rats produced by our scientists for the first time.

**Materials and Methods:** For this investigation, male Wistar rats (n=30), at the same age and weight were randomly divided into 5 groups. 2 control groups were fed a standard diet and fat enriched diet and 3 trial groups were fed with probiotic (1 ml), lovastatin (10 mg/kg) and probiotic with lovastatin for respectively 21 days. Probiotic fermented milk beverage was produced with 5 *Lactobacillus casei* strains ( $5 \times 10^9$ ) isolated from Iranian traditional fermented dairy products. At the end of experiments the cholesterol, HDL, LDL, AST, ALT, ALP, LDH and CPK were assayed.

**Results:** Results showed that the serum levels of total cholesterol, LDL and HDL increased significantly in rats fed with selected fat diet. Oral administration of probiotic and lovastatin showed significant reduction of cholesterol level from  $164.3 \pm 13.63$  to  $101.3 \pm 2.27$  and  $108.0 \pm 3.342$ , respectively. There was no synergy between medication and probiotic. The LDL levels in 3 trial groups were significantly lower than the control group with a fat enriched diet. There was no significant difference in the levels of CPK, ALT and AST compare to fatty drinks, but ALP and LDH levels in beverage group significantly increased compare to the fat control group. **Conclusion:** Based on to the results, it seems that the fermented beverage has the ability to lower cholesterol and has no side effect on the hepatocyte system of rat's liver.

**Keywords:** probiotics, cholesterol, biomarkers of liver, rat

### \*Corresponding Author:

Reza Zilabi

Tel:(+98)9166181767

e-mail: Reza.zilabi@yahoo.com

## تأثیر نوشیدنی تخمیری پروبیوتیکی ایران بر کلسترول و کبد رت

تاریخ دریافت: ۲۳ دی ۱۳۹۳

تاریخ اصلاح: ۵ اردیبهشت ۱۳۹۴

تاریخ پذیرش: ۱۹ اردیبهشت ۱۳۹۴

## چکیده

سید امین موسوی نژاد<sup>۱</sup>پروانه جعفری<sup>۲</sup>مریم تاج‌آبادی ابراهیمی<sup>۳</sup>رضا زیلابی<sup>\*۴</sup>

**مقدمه:** هدف از این مطالعه بررسی تأثیر نوشیدنی تخمیری پروبیوتیکی ایران بر سطح کلسترول و برخی شاخص‌های زیستی کبدی در مدل رت نر نژاد ویستار بود.

**مواد و روش‌ها:** برای انجام این تحقیق ۳۰ رت نر نژاد ویستار با وزن یکسان انتخاب و به صورت تصادفی به پنج گروه گروه‌بندی شدند. دو گروه کنترل دریافت‌کننده غذای معمولی و غذای چرب، سه گروه آزمون دریافت‌کننده پروبیوتیک (۱ ml)، داروی لووستاتین (۱۰ mg/kg) و پروبیوتیک و دارو باهم، به مدت ۲۱ روز. نوشیدنی شیری تخمیری پروبیوتیک از پنج سویه لاکتوباسیلوس جداشده از فراورده‌های لبنی تخمیری بومی ایران با غلظت باکتریایی معادل  $5 \times 10^9$  cfu/ml تهیه شد. در پایان میزان کلسترول، LDL، HDL، AST، ALT، ALP، LDH و CPK در سرم رت‌ها تعیین گردید.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان کلسترول خون، HDL و LDL با مصرف غذای چرب به نحو معنی‌داری افزایش یافته بود. مصرف خوراکی پروبیوتیک و دارو موجب کاهش کلسترول خون از  $13/63 \pm 164/3$  به  $2/27 \pm 10/3$  و  $3/342 \pm 10/8$  شد. اثر سینرژی بین دارو و پروبیوتیک مشاهده نشد. میزان LDL در سه گروه آزمون به صورت معنی‌داری کمتر از گروه کنترل چرب بود. تفاوت معنی‌داری در سطوح CPK، ALT و AST در گروه نوشیدنی در مقایسه با کنترل چرب مشاهده نشد اما سطح ALP و LDH در گروه نوشیدنی به صورت معنی‌داری نسبت به کنترل چرب افزایش داشت.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج حاصل به نظر می‌رسد نوشیدنی تخمیری توانایی کاهش کلسترول را داشته و فاقد آثار سوء بر سیستم بیوشیمیایی هپاتوسیتی کبد رت بی‌تأثیر است.

**کلید واژه‌ها:** پروبیوتیک، کلسترول، شاخص‌های زیستی کبدی، رت

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، تهران، ایران.  
<sup>۲</sup> استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک، اراک، ایران.  
<sup>۳</sup> استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.  
<sup>۴</sup> دکتری حرفه‌ای، پزشکی، دانشگاه علوم انتظامی، واحد جنوب غرب (اهواز)، اهواز، ایران.

\*نویسنده مسئول:

رضا زیلابی

تلفن: ۹۱۶۶۱۸۱۷۶۷ (+۹۸)

پست الکترونیک:

reza.zilabi@yahoo.com

کاهش می‌دهد [۱]. لیپوپروتئین‌های HDL<sup>۱</sup> و LDL<sup>۲</sup> وظیفه حمل چربی‌های خون به خصوص کلسترول را در بدن بر عهده‌دارند [۲]. سطوح لیپوپروتئین‌ها تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، جیره غذایی، روند زندگی و دارودرمانی است [۳]. لیپوپروتئین‌ها، شاخص دقیقی برای پیشگویی بیماری‌های کرونری قلب می‌باشند و برای شناسایی افراد در معرض خطر بیماری‌های پیش‌رونده قلبی

## مقدمه

کلسترول قابل توجه‌ترین عامل تشدیدکننده بیماری‌های قلبی عروقی است؛ اثبات شده هر یک درصد کاهش کلسترول، خطر ابتلا به بیماری‌های مربوط به شریان‌های کرونری را دو تا سه درصد

اسیدهای صفراوی ثانویه با اتصال به مواد غیرقابل جذب، نامحلول شده و باز جذب نمی‌شوند و از طریق مدفوع دفع می‌گردند. بنابراین اثرات بازدارنده اسیدهای صفراوی بر واکنش ۷-آلفا-هیدروکسیلاسیون برداشته می‌شود و به این ترتیب تبدیل کلسترول به اسیدهای صفراوی افزایش و در نتیجه کلسترول خون کاهش می‌یابد. همچنین پروبیوتیک‌ها می‌توانند به کمک مهار هیدروکسی‌متیل‌گلوکاترات کوانزیم-آر دوکتاز، کلسترول خون را کاهش دهند [۱۰].

کبد، بزرگ‌ترین و پیچیده‌ترین اندام دستگاه گوارش است که حدود دو درصد وزن بدن را شامل می‌شود. این اندام اولین جایگاه پردازش برای اکثر مواد غذایی جذبی محسوب می‌شود [۸]. هپاتوسیت‌های کبدی با واکنش‌های متابولیکی و سنتز و تخریب ماکرومولکولی در ارتباط می‌باشند. سیستم صفراوی کبد در متابولیسم بیلی روبین و نمک‌های صفراوی دخیل بوده و سیستم رتیکولواندوتلیال<sup>۹</sup> با سیستم ایمنی و تولید متابولیت‌های هم<sup>۱۰</sup> و گلوبین<sup>۱۱</sup> در ارتباط است [۱۱]. سلامت کبد را می‌توان به کمک برخی از آنزیم‌ها همچون آسپاراتات آمینو-ترانس‌فراز<sup>۱۲</sup> (AST)، آلانین آمینوترانس‌فراز<sup>۱۳</sup> (ALT)، آلکانل فسفاتاز<sup>۱۴</sup> (ALP)، لاکتات دهیدروژناز<sup>۱۵</sup> (LDH) و غیره بررسی کرد [۱۳ و ۱۲].

از قدیمی‌ترین محصولات پروبیوتیکی، شیر تخمیر شده است که به صورت سنتی در جهان مصرف می‌شود [۶ و ۲]. در ایران برای اولین بار توسط محققین ایرانی، نوشیدنی شیری تخمیری تهیه شده از پنج سویه لاکتوباسیلوس کازئی<sup>۱۶</sup> ( $5 \times 10^8$  cfu/ml) جداسازی شده از فراورده‌های لبنی تخمیری بومی ایران تولید شده است که پس از آزمایش‌های لازم در آینده‌ای نزدیک، جهت ارتقاء سطح سلامت جامعه، وارد چرخه تولید صنعتی خواهد شد. این نوشیدنی مشابه نوشیدنی یاکولت<sup>۱۷</sup> است که در بسیاری از کشورهای دنیا تولید و مصرف می‌شود.

هدف از مطالعه تجربی حاضر بررسی تأثیر نوشیدنی تخمیری پروبیوتیکی ایرانی بر کلسترول و فعالیت برخی از آنزیم‌های بدن در سرم شامل ALT، AST، ALP و LDH در مدل رت نر نژاد ویستار با تغذیه پرچرب و مقایسه با یک داروی کاهنده کلسترول، لووستاتین<sup>۱۸</sup>، بود.

همراه با کلسترول تام، سنجیده می‌شوند. HDL یک عامل خطر معکوس برای بیماری شریان کرونری است و سطوح بالای آن، اثرات محافظتی علیه بیماری دارد [۳]. این موضوع احتمالاً به دلیل نقش HDL در جمع‌آوری کلسترول از بافت‌هاست. اما فقط HDL حاوی صرفاً «آپو AI» نقش محافظ در برابر بیماری کرونر قلب را دارد، در حالی که HDL حاوی «آپو AII» این اثر را ندارد [۴]. با سنجش همزمان HDL و کلسترول تام و ارائه آن به صورت نسبت  $\frac{HDL}{Cholesterol}$ ، امکان پیش‌بینی میزان خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی بیشتر می‌شود. هرچه این نسبت بزرگ‌تر باشد، خطر بروز بیماری کمتر می‌شود. امروزه به جهت کاهش کلسترول، همراه با رژیم غذایی کم‌چرب و فعالیت بدنی مناسب، دارو نیز تجویز می‌گردد. از جمله داروهای کاهنده چربی خون داروهای خانواده استاتین‌ها می‌باشند که با مکانیسم مهار آنزیم هیدروکسی‌متیل‌گلوکاترات کوانزیم-آر دوکتاز<sup>۱</sup> سبب کاهش چربی می‌شوند [۳].

پروبیوتیک‌ها<sup>۲</sup>، میکروارگانیزم‌های غیر بیماری‌زایی هستند که اگر به تعداد کافی و به صورت زنده مورد استفاده قرار گیرند، از طریق ایجاد تعادل میکروبی در روده، اثرات مفید و سلامت‌بخشی برای میزبان خود به ارمغان می‌آورند [۵]. با توجه به اثرات مفید پروبیوتیک‌ها، کاربرد این میکروارگانیزم‌ها در بسیاری از مکمل‌های دارویی و غذایی رواج یافته است [۶]. پروبیوتیک‌ها با هیدرولیز نمک‌های صفراوی و مهار چرخه کبدی-صفراوی سبب کاهش کلسترول می‌شوند [۷ و ۵]. در نتیجه مهار چرخه کبدی-صفراوی، فعالیت کبد در تولید صفرا افزایش می‌یابد [۸].

پروبیوتیک‌ها با استفاده از آنزیم هیدروکسی‌استروئید-دهیدروژناز<sup>۳</sup> و با کمک آنزیم‌های هیدرولیز کننده اسیدهای صفراوی، ضمن شکستن اسیدهای صفراوی، نمک‌های صفراوی را نیز هیدرولیز می‌کنند و با این مکانیسم، چرخه روده‌ای-کبدی کلسترول شکسته می‌شود [۹]. به عبارت کامل‌تر، پروبیوتیک‌ها با شکستن اتصال تورین و گلیسین از نمک‌های صفراوی و نیز انجام واکنش ۷-آلفا-دهیدروکسیلاسیون<sup>۴</sup>، اسیدهای صفراوی اولیه یعنی اسید کولیک<sup>۵</sup> و اسید کتو-دزواکسی کولیک<sup>۶</sup> را به ترتیب به اسید دزواکسی کولیک و اسید لیتوکولیک<sup>۷</sup> (اسیدهای صفراوی ثانویه) تبدیل می‌کنند.

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی و جامعه آماری تعداد ۳۰ رت نر نژاد ویستار<sup>۱</sup> با سن شش هفته و وزن یکسان و حدود ۱۰۰ گرم بود. رت‌ها به صورت تصادفی به پنج گروه شامل دو گروه کنترل و سه گروه آزمون به صورت زیر گروه‌بندی شدند:

گروه کنترل معمولی: در طول مدت آزمایش فقط با دانه‌های تجاری غذای رت تغذیه شدند.

گروه کنترل پرچرب: در طول مدت آزمایش توسط رژیم پرکالری و پرچرب تغذیه شدند.

گروه نوشیدنی: همزمان با رژیم غذایی پرکالری و پرچرب، ۱ ml نوشیدنی پروبیوتیکی دریافت نمودند.

گروه دارو: همزمان با رژیم غذایی پرکالری و پرچرب داروی لووستاتین (۱۰ mg/kg) دریافت کردند.

گروه دارو- نوشیدنی: همزمان با رژیم غذایی پرکالری و پرچرب داروی لووستاتین و نوشیدنی پروبیوتیکی دریافت نمودند.

شرایط نگهداری و تغذیه نمونه‌ها

نمونه‌ها در دمای ثابت ۲۲ °C و شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا، نگهداری شدند. غذای آماده از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه شد. حیوانات قبل از شروع آزمایش به مدت دو هفته با شرایط محیط سازگار شدند. این شرایط در طول مدت آزمایش نیز برقرار بود.

پس از دو هفته نگهداری جهت سازگاری با محیط و تغذیه با غذای تجاری، گروه کنترل معمولی تحت همان رژیم غذایی تا انتهای آزمایش تغذیه شدند. غذای سایر گروه‌ها به جهت افزایش کالری و چربی دریافتی با پنج درصد روغن جامد خوراکی و خامه (روزانه ۵۰ گرم) تکمیل شد. جهت افزایش لیپوژنز مقداری شکر نیز به رژیم غذایی هر گروه اضافه گردید. میزان شکر افزوده شده به میزانی بود که طعم تغذیه شیرین نشود. تمام گروه‌ها با دسترسی آزاد به آب و مواد غذایی به صورت شبانه‌روزی تغذیه شدند.

## خون‌گیری

پس از ۲۱ روز همه رت‌ها تحت بیهوشی عمومی قرار گرفتند. بیهوشی با استفاده از روش بیهوشی استنشاقی و با ماده اتر صورت گرفت. سپس سر حیوان‌ها قطع و نمونه خون آن‌ها در لوله‌های آزمایش استریل جمع‌آوری شد. نمونه خون‌ها در دمای اتاق منعقد شدند و سپس با سانتریفوژ در ۵۰۰۰ rpm ۵ دقیقه سرد و توسط دستگاه اتوآنالیزر BT3000 و کیت‌های تشخیصی پارس آزمون ایران، سطح کلسترول، LDL، HDL، ALT، AST، ALP، LDH و کراتین فسفوکیناز<sup>۲</sup> سنجیده شد.

## روش آماری

داده‌های آماری حاصل از این آزمایش توسط نرم‌افزار Prism، با کمک آزمون t-test، جهت بررسی اختلاف میانگین بین دو گروه و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way ANOVA) جهت بررسی اختلاف میانگین چند گروه، تجزیه و تحلیل شد.  $P < 0.05$  ملاک معنی‌دار بودن اختلاف بین گروه‌های آزمایش در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

سطح کلسترول در گروه کنترل دریافت‌کننده غذای پرچرب، بسیار افزایش یافته بود ( $13/63 \pm 1/64$  mg/dl). افزایش سطح کلسترول این گروه در مقایسه با گروه کنترل دریافت‌کننده غذای معمولی ( $0/4787 \pm 1/11/8$  mg/dl) معنی‌دار بود که بیانگر نقش مستقیم رژیم غذایی در افزایش کلسترول خون است. در گروه‌های دریافت‌کننده دارو و نوشیدنی نیز، میزان کلسترول به ترتیب برابر با  $3/342 \pm 1/0/0$  mg/dl و  $2/270 \pm 1/0/3$  mg/dl بود که اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل دریافت‌کننده غذای پرچرب داشت. این نتایج مبین تأثیر نوشیدنی و داروی لووستاتین در کنترل افزایش کلسترول بود به نحوی که کلسترول خون این دو گروه دریافت‌کننده غذای پرچرب در مقایسه با گروه کنترل دریافت‌کننده غذای معمولی، کاهش معنی‌داری را نشان می‌داد. اختلاف معناداری در گروه‌های دارو و نوشیدنی، گروه دارو و گروه نوشیدنی دیده نشد (جدول ۱ و ۲).

میزان LDL در گروه کنترل پرچرب برابر  $0/2887 \pm 63/50$  mg/dl بود که نسبت به گروه کنترل معمولی

جدول ۱: میانگین سطوح کلسترول در گروه‌ها.

گروه	کنترل چرب	کنترل معمولی	نوشیدنی	دارو	نوشیدنی - دارو
Cholesterol(mg/dl)	۱۶۴/۳ ± ۱۳۶	۱۱۱/۸ ± ۰.۴۷	۱۰۱/۳ ± ۲.۲۷	۱۰۸ ± ۳/۳۴	۱۰۷/۶ ± ۴/۷۲
HDL(mg/dl)	۶۳/۵ ± ۰.۲۸	۴۷/۰ ± ۱.۲۲	۵۱/۲ ± ۲.۹۵	۴۵/۵ ± ۵/۱۸	۴۴/۴ ± ۱/۸۸
LDL(mg/dl)	۹۳/۵۶ ± ۶/۱۰	۴۰/۸۵ ± ۹/۹۸	۲۷/۴ ± ۵/۲۳	۴۴/۸ ± ۸/۵۱	۲۸/۸ ± ۵/۳۶
HDL/Cholesterol	۰/۳۹ ± ۰/۰۴	۰/۴۲ ± ۰/۰۱	۰/۵۰ ± ۰/۰۱	۰/۴۱ ± ۰/۰۳	۰/۴۱ ± ۰/۰۱

معنی دار نبود (جداول ۲ و ۱).

نتایج و سطح سرمی هر آنزیم را در جدول ۱ می‌توان مشاهده نمود. با مقایسه سطح فعالیت AST در گروه‌های آزمودنی و دو گروه کنترل، اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل معمولی و کنترل پرچرب مشاهده نشد؛ اما کاهش سطح فعالیت آنزیم در گروه دارو نسبت به کنترل چرب دیده شد. گروه نوشیدنی و گروه نوشیدنی - دارو در مقایسه با کنترل چرب اختلاف معنی‌داری نداشتند (جداول ۳ و ۴).

با مقایسه سطح ALT در گروه‌های آزمودنی اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های نوشیدنی، دارو و نوشیدنی و گروه‌های کنترل دیده نشد؛ اما کاهش معنی‌دار سطح فعالیت آنزیم در گروه دارو نسبت به گروه نوشیدنی گزارش شد (جداول ۳ و ۴).

با مقایسه سطح فعالیت ALP بین گروه‌های آزمودنی و کنترل چرب، تنها در گروه نوشیدنی افزایش معنی‌دار مشاهده شد (جداول ۳ و ۴).

با بررسی سطح LDH سرمی گروه‌ها در مقایسه با کنترل چرب، تنها گروه نوشیدنی نسبت به کنترل چرب افزایش معنی‌داری را نشان داد (جداول ۳ و ۴).

با بررسی سطح CPK سرمی گروه‌ها، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نگردید (جداول ۳ و ۴).

نتایج و سطح سرمی هر آنزیم همراه با مقایسه اختلاف میانگین هر گروه با کنترل چرب را در جدول ۳ می‌توان مشاهده نمود.

۴۷/۰۰ ± ۱/۲۲۵ mg/dl به صورت معنی‌داری افزایش یافته بود. نوشیدنی پروبیوتیک و لوو استاتین سبب کاهش LDL خون به ۴۵/۵۰ ± ۵/۱۸ mg/dl و ۵۱/۲۵ ± ۲/۹۵۵ dl به کنترل پرچرب کاهش معنی‌داری را نشان می‌دادند. همچنین شاهد کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل دریافت‌کننده غذای معمولی نیز بودیم. این نتایج بیان می‌دارد که نوشیدنی پروبیوتیک و دارو هر دو در جهت کاهش LDL خون مؤثر بوده است. در مقایسه گروه نوشیدنی و گروه دارو، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اثر سینرژیک هنگام مصرف همزمان دارو و نوشیدنی در مقایسه با گروه دارو و گروه نوشیدنی، وجود نداشت (جداول ۲ و ۱).

میزان سطح HDL در گروه‌های دریافت‌کننده نوشیدنی پروبیوتیک و دارو نسبت به کنترل معمولی اختلاف معنی‌داری دیده نشد. با مقایسه کنترل چرب نسبت به کنترل معمولی و افزایش معنی‌دار HDL در کنترل چرب (P = ۰/۰۰۱)، به نظر می‌رسد افزایش HDL با افزایش کلسترول متناسب بوده است. لذا مقایسه HDL گروه‌ها، بدون در نظر گرفتن کلسترول تام به ظاهر خالی از اشکال نیست. جهت رفع این مشکل نسبت HDL به کلسترول مقایسه شد.

در بررسی نسبت HDL کلسترول مشخص گردید که این نسبت در گروه دریافت‌کننده نوشیدنی پروبیوتیک نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری پیدا نموده؛ درحالی‌که در سایر گروه‌ها این اختلاف

جدول ۲: بررسی مقایسه‌ای کلسترول گروه‌ها.

HDL کلسترول (Pvalue)	LDL (Pvalue)	ChoLesterol (Pvalue)	گروه‌ها
۰/۰۲۱۷	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۸۴	کنترل چرب - کنترل معمولی
۰/۰۴۷۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۴۰	کنترل چرب - نوشیدنی
۰/۷۱۲۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۷	کنترل چرب - دارو
۰/۶۸۰۷	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۳۵	کنترل چرب - دارو و نوشیدنی
۰/۰۵۴۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۸	دارو - نوشیدنی - کنترل معمولی
۰/۰۴۵۰	۰/۰۹۹۹	۰/۴۴۳۳	دارو - نوشیدنی - دارو و نوشیدنی

گروه	کنترل چرب	کنترل معمولی	نوشیدنی	دارو	نوشیدنی - دارو
AST(U/l)	۲۵۳/۳ ± ۱۶/۱۷	۳۷۵/۵ ± ۱۲/۶۵	۳۷۷/۸ ± ۹/۴۲۰	۱۰۸ ± ۳/۳۴۲	۴۳۰/۸ ± ۲۷/۶۵
ALT(U/l)	۶۱/۰۰ ± ۳/۷۸۶	۵۷/۷۵ ± ۲/۳۵۸	۶۴/۷۵ ± ۲/۰۵۶	۴۵/۵۰ ± ۵/۱۸۸	۵۵/۸۰ ± ۱/۵۹۴
ALP(U/l)	۱۵۲۵ ± ۲۲۰/۸	۲۰۷۳ ± ۱۴۶/۹	۲۶۶۹ ± ۱۱۱/۴	۱۹۷۳ ± ۳۰۲/۶	۲۶۸۳ ± ۲۳۹/۷
LDH(U/l)	۸۵۹۳ ± ۵۷۴۷	۷۳۸۲ ± ۵۷۰/۷	۹۲۱۶ ± ۲۹۳/۵	۷۶۸۹ ± ۳۱۸/۶	۸۶۸۷ ± ۱۰۶/۲
CPK(U/l)	۴۷۲۴ ± ۵۰۲/۶	۴۷۳۸ ± ۴۲۰/۸	۴۰۱۳ ± ۳۸۳	۴۰۲۵ ± ۳۳۹	۴۹۵۵ ± ۴۲۱/۸

## بحث و نتیجه‌گیری

میزان LDL کاهش می‌یابد [۱۵] که با مطالعه حاضر همخوانی دارد و از این لحاظ که نوشیدنی در مدت‌زمان کمتر درصد بیشتری از سطح کلسترول را کاهش داده است نشان‌دهنده تأثیر بهتر نوشیدنی مذکور بر کلسترول است. همچنین فوکوشیما<sup>۴</sup> و همکاران (۱۹۹۹) نیز در تحقیقی مشابه بر روی رت نر نژاد فیشر با سن هشت هفته با خوراندن سوس برنج تخمیر شده توسط لاکتوباسیلوس اسیدوفیوس<sup>۵</sup> سبب کاهش ۲۱/۳ درصد کلسترول شدند [۱۶] و نیز در تحقیق باروتکوب<sup>۶</sup> و همکاران (۲۰۱۰) بر روی افراد هاپیرکلسترولمیک، نشان داده شد لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکترها ضمن کاهش ۳۰ واحدی سطح کلسترول سرم، سطح LDL را نیز کاهش می‌دهند [۱۷]. همه مطالعات مذکور با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشته‌اند.

با بررسی اثر لووستاتین بر شاخص‌های زیستی کبدی علی‌رغم پیش‌بینی عوارض کبدی در انسان و افزایش سطح ALT و AST [۱۸]، به نظر می‌رسد در این مطالعه این دارو بر کبد رت اثر سوء نداشته است. در مطالعه سارکی<sup>۷</sup> و همکاران (۲۰۰۷)، با بررسی ALT، AST و کراتین کیناز<sup>۸</sup> (CK)، ۱۰ تا ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم لووستاتین در رت نر نژاد لوئیس<sup>۹</sup> تأثیر هپاتوتوکسیکی و میوتوکسیکی از خود نشان ندادند [۱۹] که با مطالعه حاضر همخوانی

هدف از اجرای مطالعه حاضر بررسی تأثیر نوشیدنی تخمیری پروبیوتیکی ایران بر سطح کلسترول و همچنین شاخص‌های زیستی کبد در مدل رت نر نژاد ویستار و مقایسه آن با داروی کاهنده کلسترول، لووستاتین، تحت تغذیه پرچرب بود.

با بررسی نتایج حاصل از این تحقیق مشخص شد در رت‌های با غذای پرچرب، داروی لووستاتین و نوشیدنی پروبیوتیک میزان کلسترول خون را به ترتیب به میزان ۳۴/۳ و ۳۸/۴ درصد نسبت به گروه کنترل با غذای پرچرب کاهش داده بود. میزان کاهش LDL در گروه‌های مذکور به ترتیب برابر ۵۲/۱ و ۷۰/۷٪ بود. با بررسی نسبت  $\frac{HDL}{کلسترول}$  مشخص شد که این مقدار در گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک ۲۱٪ افزایش یافته درحالی‌که در گروه‌های دیگر تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد حاصل نشده بود.

نگوژن<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۷) در تحقیقی بر روی ۲۰ موش در مدت ۱۴ روز نشان دادند که لاکتوباسیلوس پلانتاروم<sup>۲</sup> سطح کلسترول سرم را تا ۷٪ کاهش می‌دهد [۱۴].

در مطالعه ابراهیم<sup>۳</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی ۴۸ رت نر هاپیرکلسترولمیک نشان دادند که با خوراندن ۵۰ گرم ماست حاوی بیفیدوباکتر در مدت ۳۵ روز ۵۰/۲٪ کلسترول تام و ۵۶/۳٪ از

جدول ۴: بررسی مقایسه‌ای میزان تست‌های کبدی گروه‌ها.

گروه‌ها	AST (P.value)	ALT (P.value)	ALP (P.value)	LDH (P.value)	CPK (P.value)
کنترل چرب - کنترل معمولی	۰/۳۲۰۱	۰/۴۹۳۷	۰/۰۸۴۷	۰/۰۷۹۳	۰/۹۸۴۲
کنترل چرب - نوشیدنی	۰/۸۹۱۲	۰/۰۶۶۶	۰/۰۱۷۸	۰/۰۲۸۹	۰/۲۴۹۶
کنترل چرب - دارو	۰/۰۰۰۱	۰/۰۷۵۲	۰/۷۷۶۸	۰/۶۵۴۹	۰/۲۳۵۱
کنترل چرب - دارو و نوشیدنی	۰/۱۴۰۴	۰/۵۰۱۰	۰/۰۸۲۲	۰/۰۶۵۵	۰/۷۲۹۸
دارو - نوشیدنی - دارو نوشیدنی	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۶۴	۰/۱۰۴۰	۰/۰۰۶۹	۰/۱۸۴۱
دارو - نوشیدنی	۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۳۶	۰/۰۷۴۲	۰/۰۱۲۴	۰/۹۸۱۷

دارد.

رت‌ها نداشته‌است.

در پایان می‌توان چنین نتیجه گرفت که نوشیدنی تخمیری پروبیوتیکی ایران ضمن کاهش کلسترول و افزایش HDL باوجود رژیم غذایی چرب، فاقد آثار سوء بر سیستم بیوشیمیایی هپاتوسیتی رت بوده است اما جهت بررسی سیستم کبدی- صفراوی (هپاتوبیلیاری) نیاز به مطالعه بیشتر و بررسی آزمایش‌های مکمل مانند بررسی بافت کبد، تعیین میزان بیلی‌روبین، گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT)،  $\gamma$  نوکلئوتیداز و غیره دارد.

کاربرد یافته‌ها در ناچا:

با توجه به بند سه قسمت آما، تغذیه و سلامت دستورالعمل طرح امام رضا (ع) در صورت صنعتی شدن، نوشیدنی مذکور می‌تواند جایگزینی مناسب جهت نوشیدنی‌های گازدار گردد تا ضمن حمایت از تولید و سرمایه ملی، شاهد تأثیرات فراسودمند پروبیوتیک‌ها بر ارتقاء سطح سلامت کارکنان باشیم.

### تشکر و قدردانی

نگارندگان بر خود فرض می‌دانند از همه کسانی که در این پژوهش ما را یاری رساندند به‌خصوص آقای دکتر مهدی حیاتی فر، سرکار خانم هدی بهرامی و نیز شرکت تک‌ژن زیست که نوشیدنی تخمیری را در اختیار نهاد، تشکر و قدرانی را داشته باشند.

### منابع

1. Koeppen BM, Stanton BA. *Beurn & lewy Physiology*. Translated by Bigdeli MR. 1st ed. Tehran: Teimourzadeh Press 2010; 105-16. (Persian)
2. Lourens-Hattingh A, Bennie CV. Yogurt as probiotic carrier food. *Int Dairy J* 2001; 11: 1-7.
3. US Preventive Services Task Force. Screening for Gestational Diabetes Mellitus: Recommendation Statement. *Am Fam Physician* 2009; 80: 173-4.
4. Abdolsamadi HR, Zamani Bonab M, Goodarzi MT, Soltanian AR, Radi Sh, Ahmadi Motamayel F. Comparative evaluation of salivary antioxidants in gestational diabetes and healthy pregnant women. *Daneshvar Med* 2011; 18: 1-8. (Persian)
5. Ejtahed H, Mohtadi Nia J, Homayouni Rad A, Niarfar M, Asghari Jafarabadi M, Mofid V. The effects of probiotic yoghurt consumption on blood pressure and serum lipids in type 2 diabetic patients: Randomized clinical trial. *Ir J Nut Sci Food Technol* 2012; 6: 1-12. (Persian)
6. Sanders ME, Akkermans LM, Haller D, Hammerman C, Heimbach JT, Hörmannspurger G, et al. Safety assessment of probiotics for human use. *Gut*

عبدالغنی<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۲) در یک مطالعه تجربی<sup>۲</sup>، با عنوان تأثیر زیست‌شناختی ماست و رزماری بر کبد آسیب‌دیده رت، پس از آسیب رساندن به کبد رت‌ها با CCL4 سطح آنزیم‌های مختلف سرمی را در مقایسه با کنترل منفی بررسی نمودند؛ اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل منفی و گروه دریافت‌کننده ماست و رزماری در سطح ALT، AST و ALP مشاهده نشد اما افزایش معنی‌داری در سطح آنزیم‌ها در گروه کنترل مثبت در مقایسه با کنترل منفی مشاهده شد [۲۰].

با بررسی سطح فعالیت ترانس‌آمینازها (ALT و AST) به نظر می‌رسد این آنزیم‌ها در گروه نوشیدنی تخمیری نسبت به کنترل چرب اختلاف معنی‌داری ندارند و می‌توان ادعا کرد نوشیدنی تخمیری تأثیر هپاتوتوکسیکی بر کبد رت‌ها نداشته است.

افزایش سطح آنزیم‌های ALP و LDH در گروه نوشیدنی در مقایسه با کنترل چرب بسیار حائز اهمیت است؛ اگرچه نمی‌توان با قطعیت نظر به بیماری خاصی داد. جهت بررسی بیشتر ضایعات پیش‌رونده کبدی و یا انسداد مجاری صفراوی لازم است آزمایش‌های تکمیلی مانند بررسی بافت کبد همراه با بررسی آنزیم‌هایی مانند میزان بیلی‌روبین، گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT)،  $\gamma$  نوکلئوتیداز و غیره صورت گیرد.

در مطالعه بابازاده و همکاران (۲۰۱۱) پروبیوتیک‌ها سبب کاهش میزان ALP در جوجه‌های بلدرچین نسبت به گروه کنترل شده بودند و سطح LDH تفاوتی با گروه کنترل نداشت [۲۱] و این تناقض با مطالعه حاضر شاید به علت رژیم غذایی پرچرب و پرکالری در مطالعه حاضر باشد.

با توجه به اینکه آنزیم‌های ALP و LDH آنزیم‌های اختصاصی کبد نیستند و در بافت‌های دیگر مانند عضلات و استخوان‌ها نیز یافت می‌شوند. در مطالعه حاضر برای حذف مداخلات احتمالی، میزان CPK نیز که در بافت کبد وجود ندارد و در بافت‌های استخوانی و عضلانی به مقدار زیاد یافت می‌شود، بررسی شد و اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نگردید و می‌توان ادعا کرد افزایش سطوح ALP و LDH در اثر مشکلات استخوانی و عضلانی نبوده است؛ از اینرو نوشیدنی تخمیری اثرات میوپاتی بر

- Microbes 2010; 1: 164-85.
7. Homayouni A, Payahoo L, Azizi A. Effects of probiotics on lipid profile: A review. *Am J Food Technol* 2012; 7: 251-65.
  8. Guyton A, Hall J. Textbook of medical physiology 11th edition Elsevier Inc. Philadelphia PA 2006.
  9. Karimzadeh S, Teimouri Yancary A, Karimzadeh Gh, Maniei M, Hamidi M. The benefits and the use of probiotics in Livestocks, poultries and Aquatics feed. Sari: Avaye Masih Press 2009. (Persian)
  10. Noh DO, Gilliland SE. Influence of bile on cellular integrity and beta-galactosidase activity of *Lactobacillus acidophilus*. *J Dairy Sci* 1993; 76: 1253-9.
  11. McPherson RA, Pincus MR. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. Elsevier Health Sciences 2011.
  12. Srivastava T, Chosdol K. Clinical enzymology and its applications. Year Date Accessed 2015. Available from: <http://nsdl.niscair.res.in/jspui/handle/123456789/697>.
  13. Hyder MA, Hasan M, Mohieldein AH. Comparative levels of ALT, AST, ALP and GGT in liver associated diseases. *Eur J Exp Biol* 2013; 3: 280-4.
  14. Nguyen T, Kang J, Lee M. Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *Int J Food Microbiol* 2007; 113: 358-61.
  15. Ibrahim A, El-sayed E, El-zeini H. The hypocholesterolemic effect of milk yogurt and soy-yogurt containing bifidobacteria in rats fed on a cholesterol-enriched diet. *Int Dairy J* 2005; 15: 37-44.
  16. Fukushima M, Yamada A, Endo T, Nakano M. Effects of a mixture of organisms, *Lactobacillus acidophilus* or *Streptococcus faecalis* on delta6-desaturase activity in the livers of rats fed a fat- and cholesterol-enriched diet. *Nutrition* 1999; 15: 373-8.
  17. Baroutkoub A, Roushan Zamir M, Beglarian R, Hassan J, Sohrabi Z, Mazloomi SM, et al. Effects of probiotic yoghurt consumption on the serum cholesterol levels in hypercholesteromic cases in Shiraz, Southern Iran. *Sci Res Essays* 2010; 5: 2206-9.
  18. Cohen DE, Anania FA, Chalasani N. An assessment of statin safety by hepatologists. *Am J Cardiol* 2006; 97: 77C-81C.
  19. Sarkey JP, Richards MP, Stubbs EB, Jr. Lovastatin attenuates nerve injury in an animal model of Guillain-Barre syndrome. *J Neurochem* 2007; 100: 1265-77.
  20. Abd El-Ghany MA, Motawee MM, El-Kewawy HEM. Biological effects of yoghurt with rosemary on injured liver rats. *Aust J Basic Appl Sci (Online)* 2012; 6: 525-32.
  21. Babazadeh D, Vahdatpour T, Nikpiran H, Jafarholipour M, Vahdatpour S. Effects of probiotic, prebiotic and synbiotic intake on blood enzymes and performance of Japanese quails (*Coturnix japonica*). *Indian J Anim Sci* 2011; 81: 870.