Journal of Police Medicine

Spring 2015; Vol. 4, No. 1: 49-56

Original Article

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

Seyed Amin Mousavinejad[1]

Parvaneh Jafari[2]

Maryam Tajabadi Ebrahimi[3]

Reza Zilabi[4]*

[1]M.A., Microbiology, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Tehran Sciences and Researches Branch, Tehran, Iran.

[2]Assistant Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Arak Branch, Arak, Iran.

[3]Assistant Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Central Branch of Tehran, Tehran, Iran.

[4]M.D., University of Police Sciences, Southern West Branch, Ahvaz, Iran.

ABSTRACT

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 (5×10^9) 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 ± 13.63 to 101.3 ± 2.27 and 108.0 ± 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

بهار ۱۳۹۴- دوره ۴ - شماره ۱- صفحات ۵۶-۴۹

مجله طب انتظامی

مقاله تحقیقی

تأثیر نوشیدنی تخمیری پروبیوتیکی ایران بر کلسترول و کبدِ رت

تاریخ دریافت: ۲۳ دی ۱۳۹۳ **تاریخ اصلاح:** ۵ اردیبهشت ۱۳۹۴ **تاریخ پذیرش:** ۱۹ اردیبهشت ۱۳۹۴

چکیده

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 5×10^{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 افزایش‌یافته بود. مصرف خوراکی پروبیوتیک و دارو موجب کاهش کلسترول خون از ۱۳/۶۳ ± ۱۶۴/۳ به ۲/۲۷ ± ۱۰۱/۳ و ۳/۳۴۲ ± ۱۰۸/۰ شد. اثر سینرژی بین دارو و پروبیوتیک مشاهده نشد. میزان LDL در سه گروه آزمون به‌صورت 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 به‌صورت 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

سید امین موسوی نژاد[۱]
پروانه جعفری[۲]
مریم تاج‌آبادی ابراهیمی[۳]
رضا زیلابی[4*]

[۱]کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، تهران،ایران.
[۲]استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک،اراک، ایران.
[۳]استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.
[4]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

مقدمه

کلسترول قابل‌توجه‌ترین عامل تشدیدکننده بیماری های قلبی عروقی است؛ اثبات‌شده هر یک درصد کاهش کلسترول، خطر ابتلا به بیماری‌های مربوط به شریان‌های کرونر را دو تا سه درصد کاهش می‌دهد [۱]. لیپوپروتئین‌های HDL[۱] و LDL[۲] وظیفه حمل چربی‌های خون به‌خصوص کلسترول را در بدن بر عهده‌دارند [۲]. سطوح لیپوپروتئین‌ها تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، جیره غذایی، روند زندگی و دارودرمانی است [۳]. لیپوپروتئین ها، شاخص دقیقی برای پیشگویی بیماری‌های کرونری قلب می‌باشند و برای شناسایی افراد در معرض خطر بیماری‌های پیش‌رونده قلبی

[1:] High Density lipoprotein, [2:] Low Density lipoprotein

Journal of Police Medicine
Spring 2015; Vol. 4, No. 1: 49-56

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 به‌دلیل نقش HDL در جمع‌آوری کلسترول از بافت‌هاست. اما فقط HDL حاوی صرفاً «آپو AI » نقش محافظ در برابر بیماری کرونر قلب را دارد، درحالی‌که HDL حاوی «آپو AII » این اثر را ندارد [۴]. با سنجش همزمان HDL و کلسترول تام و ارائه آن به‌صورت نسبت $\frac{\text{HDL}}{\text{Cholesterol}}$ ، امکان پیش‌بینی میزان خطر ابتلا به بیماری های 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. ازجمله داروهای کاهنده چربی خون داروهای خانواده استاتین‌ها می باشند که با مکانیسم مهار آنزیم هیدروکسی‌متیل‌گلوتارات کوآنزیم آ–ردوکتاز[۱] سبب کاهش چربی می‌شوند [۳].

پروبیوتیک‌ها[۲]، میکروارگانیسم‌های غیر بیماری‌زایی هستند که اگر به تعداد کافی و به‌صورت زنده مورداستفاده 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 میکروارگانیسم‌ها 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]. درنتیجه مهار چرخه کبدی- صفراوی، فعالیت کبد در تولید صفرا افزایش می‌یابد [۸].

پروبیوتیک‌ها با استفاده از آنزیم هیدروکسی‌استروئید–دهیدروژناز[۳] 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[۴]، اسیدهای صفراوی اولیه یعنی اسید کولیک[۵] و اسید کتو–دزواکسی کولیک[۶] را به ترتیب به اسید دزواکسی کولیک و اسید لیتوکولیک[۷] (اسیدهای صفراوی ثانویه) تبدیل می کنند. اسیدهای صفراوی ثانویه با اتصال به مواد غیرقابل‌جذب، 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 به‌این‌ترتیب تبدیل کلسترول به اسیدهای صفراوی افزایش و درنتیجه کلسترول خون کاهش می‌یابد. همچنین پروبیوتیک ها می توانند به کمک مهار هیدروکسی‌متیل‌گلوتارات کوآنزیم آ–ردوکتاز، 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[۸] 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[۹] با سیستم ایمنی و تولید متابولیت‌های هِم[۱۰] و گلوبین[۱۱] در ارتباط است [۱۱].

سلامت کبد را می‌توان به کمک برخی از آنزیم‌ها همچون آسپارتات آمینو–ترانس‌فراز[۱۲] (AST)، آلانین‌آمینوترانس فراز[۱۳] (ALT)، آلکالن فسفاتاز[۱۴] (ALP)، لاکتات دهیدروژناز[۱۵] (LDH) و غیره بررسی کرد [۱۳ و ۱۲].

از قدیمی‌ترین محصولات پروبیوتیکی، شیر تخمیرشده است که به‌صورت سنتی در جهان مصرف می‌شود [۶ و ۲]. در ایران برای اولین بار توسط محققین ایرانی، نوشیدنی شیری تخمیری تهیه‌شده از پنج سویه لاکتوباسیلوس کازئی[۱۶] (۵×۱۰^{۹}cfu/ml) جداشده از فراورده‌های لبنی تخمیری بومی ایران تولیدشده 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[۱۷] 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[۱۸]، بود.

1: HydroxymethylglutarylcoAreductase, 2: probiotics, 3: Hydroxysteroid dehydrogenase, 4: 7 alpha dihydroxylation, 5: Cholic acid
6: Ketodeoxycholic acid, 7: Lithocholic acid, 8: Hepatocyte, 9: Reticuloendothelial, 10: Hem, 11: Globin, 12: Aspartate aminotransferases
13: alanine aminotransferases, 14: Alkaline phosphatase, 15: lactate dehydrogenase, 16: lactobacillus casei, 17: Yakult, 18: Lovastatin

مجله طب انتظامی
زمستان ۱۳۹۳- دوره ۳- شماره ۴- صفحات ۵۶-۴۹

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی و جامعه آماری تعداد ۳۰ رت نر نژاد ویستار[1] با سن شش هفته و وزن یکسان و حدود ۱۰۰ گرم بود. رت‌ها به‌صورت تصادفی به پنج گروه شامل دو گروه کنترل و سه گروه آزمون به‌صورت 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 جندی‌شاپور 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 افزوده‌شده به میزانی بود که طعم تغذیه شیرین نشود. تمام گروه‌ها با دسترسی آزاد به آب و مواد غذایی به‌صورت 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 لوله های آزمایش استریل جمع‌آوری شد. نمونه خون‌ها در دمای اتاق منعقد شدند و سپس با سانتریفوژ در ۵۰۰۰ rpm سرم آن جدا و توسط دستگاه اتوآنالیزر BT3000 و کیت‌های تشخیصی پارس آزمون ایران، سطح کلسترول، LDL، HDL، ALT، AST، ALP، LDH و کراتین‌فسفوکیناز[2] 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، تجزیه‌وتحلیل 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 افزایش‌یافته بود (۱۳/۶۳ mg/dl ± ۱۶۴/۳). افزایش سطح کلسترول این گروه در مقایسه با گروه کنترل دریافت‌کننده غذای معمولی (۰/۴۷۸۷ mg/dl ± ۱۱۱/۸) معنی‌دار بود که بیانگر نقش مستقیم رژیم غذایی در افزایش کلسترول خون است. در گروه های دریافت‌کننده دارو و نوشیدنی نیز، میزان کلسترول به ترتیب برابر با ۳/۳۴۲ mg/dl ± ۱۰۸/۰ و ۲/۲۷۰ mg/dl ± ۱۰۱/۳ بود که اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل دریافت‌کننده غذای پرچرب داشت. این نتایج مبین تأثیر نوشیدنی و داروی لووستاتین در کنترل افزایش کلسترول بود به‌نحوی‌که کلسترول خون این دو گروه دریافت‌کننده غذای پرچرب در مقایسه با گروه کنترل دریافت‌کننده غذای معمولی، کاهش معنی‌داری را نشان می‌داد. اختلاف معناداری در گروه های دارو و نوشیدنی، گروه دارو و گروه نوشیدنی دیده نشد (جداول ۱ و ۲).

میزان LDL در گروه کنترل پرچرب برابر ۰/۲۸۸۷ mg/dl ± ۶۳/۵۰ بود که نسبت به گروه کنترل معمولی

[1:] Wistar, [2:] Creatine phospho kinase

Journal of Police Medicine
Spring 2015; Vol. 4, No. 1: 49-56

جدول ۱: میانگین سطوح کلسترول در گروه‌ها.

گروه	کنترل چرب	کنترل معمولی	نوشیدنی	دارو	نوشیدنی ـ دارو
Cholesterol(mg/dl)	۱۶۴/۳ ± ۱۳.۶	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

mg/dl ۱/۲۲۵ ± ۴۷/۰۰ به‌صورت معنی‌داری افزایش‌یافته بود. نوشیدنی پروبیوتیک و لووستاتین سبب کاهش LDL خون به mg/ dl ۲/۹۵۵ ± ۵۱/۲۵ و mg/dl ۵/۱۸ ± ۴۵/۵۰ شده بود که نسبت 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 دیده‌نشد. با مقایسه کنترل چرب نسبت به کنترل معمولی و افزایش معنی دار 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 به‌ظاهر خالی از اشکال نیست. جهت رفع این مشکل نسبت HDL به کلسترول مقایسه شد.

در بررسی نسبت $\frac{HDL}{کلسترول}$ مشخص گردید که این نسبت در گروه دریافت‌کننده نوشیدنی پروبیوتیک نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری پیدا نموده؛ درحالی‌که در سایر گروه‌ها این اختلاف معنی‌دار 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 ۴ و ۳).

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 ۴ و ۳).

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

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

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

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

جدول ۲: بررسی مقایسه‌ای کلسترول گروه‌ها.

گروه‌ها	ChoLesterol (Pvalue)	LDL (Pvalue)	$\frac{HDL}{کلسترول}$ (Pvalue)
کنترل چرب – کنترل معمولی	۰/۰۰۸۴	۰/۰۰۰۱	۰/۰۲۱۷
کنترل چرب – نوشیدنی	۰/۰۰۴۰	۰/۰۰۰۱	۰/۰۴۷۵
کنترل چرب – دارو	۰/۰۰۷	۰/۰۰۰۱	۰/۷۱۲۱
کنترل چرب- دارو و نوشیدنی	۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۰۱	۰/۶۸۰۷
دارو – نوشیدنی- کنترل معمولی	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۱	۰/۰۵۴۲
دارو- نوشیدنی – دارو و نوشیدنی	۰/۴۴۳۳	۰/۰۹۹۹	۰/۰۴۵۰

مجله طب انتظامی
زمستان ۱۳۹۳- دوره ۳- شماره ۴- صفحات ۵۶-۴۹

جدول ۳: میانگین سطوح آنزیم‌های کبدی در گروه‌ها.

گروه	کنترل چرب	کنترل معمولی	نوشیدنی	دارو	نوشیدنی ـ دارو
AST(U/l)	۳۵۳/۳ ± 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

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 رت های 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٪ افزایش‌یافته درحالی‌که در گروه‌های دیگر تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد حاصل نشده بود.

نگوژن[1] و همکاران (۲۰۰۷) در تحقیقی بر روی ۲۰ موش در مدت ۱۴ روز نشان دادند که لاکتوباسیلوس پلانتاروم[2] سطح کلسترول سرم را تا ۷٪ کاهش می‌دهد [۱۴].

در مطالعه ابراهیم[3] و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی ۴۸ رت نر هایپرکلسترولمیک نشان دادند که با خوراندن gr ۵۰ گرم ماست حاوی بیفیدوباکتر در مدت ۳۵ روز ۵۰/۲٪ کلسترول تام و ۵۶/۳٪ از 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[4] و همکاران (۱۹۹۹) نیز در تحقیقی مشابه بر روی رت نر نژاد فیشر با سن هشت هفته با خوراندن سبوس برنج تخمیر شده توسط لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیوس[5] سبب کاهش ۲۱/۳ درصد کلسترول شدند [۱۶] و نیز در تحقیق باروتکوب[6] و همکاران (۲۰۱۰) بر روی افراد هایپرکلسترولمیک، 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 علی رغم 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[7] و همکاران (۲۰۰۷)، با بررسی ALT، AST و کراتین کیناز[8] (CK) ، ۱۰ تا ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم لووستاتین در رت نر نژاد لوئیس[9] تأثیر هپاتوتوکسیکی و میوتوکسیکی از خود نشان ندادند [۱۹] که با مطالعه حاضر همخوانی

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

1: Negugen, 2: L.Plantarum, 3: Ibrahim, 4: Fukushima, 5: L.acidophilus, 6: Baroutkoub, 7: Sarkey, 8: creatine kinase, 9: Lewis

Journal of Police Medicine
Spring 2015; Vol. 4, No. 1: 49-56

دارد.

عبدالغنی[1] و همکاران (۲۰۱۲) در یک مطالعهٔ تجربی[2]، 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 (AST و ALT) 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، گاماگلوتامیل‌ترانسفراز (GGT)، ۵´ نوکلئوئیداز 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 بافت های 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 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)، ۵´ نوکلئوئیداز و غیره دارد.

کاربرد یافته‌ها در ناجا:

با توجه به بند سه قسمت آماد، تغذیه و سلامت دستورالعمل طرح امام رضا (ع) در صورت صنعتی شدن، نوشیدنی مذکور می تواند 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 همه‌کسانی که در این پژوهش ما را یاری رساندند به‌خصوص آقای دکتر مهدی حیاتی فر، سرکار خانم هدی بهرامی و نیز شرکت تک‌ژن‌زیست 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, Niafar 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, Hörmannsperger G, et al. Safety assessment of probiotics for human use. Gut

مجله طب انتظامی
زمستان ۱۳۹۳- دوره ۳- شماره ۴- صفحات ۵۶-۴۹

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 hypercholestromic 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, Jafargholipour 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.