



## تأثیر مخلوط پست بیوتیک بر شاخص‌های بیوشیمیایی مغز در موش صحرایی

### آلوده به عفونت سالمونلا تیفی موریوم

زهرا کشتمند<sup>۱\*</sup>، لیلاراد<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۶

#### چکیده

هدف از این پژوهش بررسی اثر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانتی مخلوط پست بیوتیک (لاکتوباسیلوس پلانتروم، لاکتوباسیلوس پاراکازنی و لاکتوباسیلوس برویس) بر بافت مغز آلوده به باکتری سالمونلا تیفی موریوم در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستارمی‌باشد. در این مطالعه تجربی ۲۱ موش صحرایی نر نژاد ویستار، در سه گروه شامل گروه کنترل، آلوده به سالمونلا تیفی موریوم ( $10^9 CFU/ml$ ) و مدل آلوده + دریافت‌کننده پست بیوتیک ( $10^9 CFU/ml$ ) تقسیم بندی شدند. القا آلودگی با تزریق درون صفاقی و دریافت پست بیوتیک به مدت ۳۰ روز با روش گاوژ انجام شد. بعد از دوره تیمار جهت سنجش سطح کورتیزول و سروتونین سرمی، خونگیری از ناحیه قلب انجام و بافت مغز جهت بررسی سطح فعالیت آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و MDA در گروه‌های مختلف استخراج شد. آنالیز داده‌ها در گروه‌های مختلف با نرم افزار SPSS و آزمون آماری واریانس یک طرفه انجام و  $P < 0/05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد. نتایج حاصل، تغییر معنا دار سطح فعالیت کورتیزول، سروتونین، SOD، CAT و MDA در گروه‌های آلوده را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ( $P < 0/001$ ). در حالی که افزایش سطح سروتونین، SOD، CAT و کاهش کورتیزول و MDA در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه آلوده به صورت معنادار نشان داده شد ( $P < 0/05$ ). براساس نتایج به دست آمده مخلوط پست بیوتیک (لاکتوباسیلوس پلانتروم، لاکتوباسیلوس پاراکازنی و لاکتوباسیلوس برویس) اثر تعدیل‌کنندگی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بافت مغز موش‌های آلوده به باکتری را نشان داد. بنابراین احتمالاً بتواند به عنوان یک ابزار امیدوارکننده درمانی استفاده شود.

**واژه‌های کلیدی:** پست بیوتیک، آنتی‌اکسیدان، کورتیزول، سروتونین، مغز، سالمونلا تیفی موریوم، موش صحرایی

\* zkeshtmand2001@gmail.com

## مقدمه

سرعت افزایش مقاومت باکتریایی نیست و نیاز مبرم به رویکردهای جدید برای مقابله با عفونت‌های باکتریایی احساس می‌شود. یکی از راه‌های مبارزه با این عوامل میکروبی، جایگزینی عوامل ضدباکتریایی مطمئن است که گونه‌های مختلف میکروبی به این عوامل مقاوم نشوند (۷). در حال حاضر، استفاده از پروبیوتیک‌ها و متابولیت‌های آنها به عنوان یک استراتژی درمانی زیست سازگار به ویژه مورد توجه جامعه علمی قرار گرفته است (۸). گزارش شده است که پست بیوتیک‌ها نیز مشابه پروبیوتیک‌ها بر بسیاری از مسیرهای کلیدی اثرگذار هستند و می‌توانند توسط میکروبیوتای میزبان تحت تأثیر قرار گیرند و در نتیجه به عنوان یک نامزد بسیار امیدوارکننده برای هدف قرار دادن اختلالات محور روده-مغز معرفی می‌شوند (۹). ترکیبات زیستی مانند پست بیوتیک‌ها با توجه به ویژگی‌های منحصربه‌فرد خود از جمله پایداری، ایمن و غیرسمی بودن و همچنین به دلیل دارا بودن فعالیت‌های زیستی و ایجاد اثرات سلامت بخش مشابه سلول‌های پست بیوتیک والد خود، می‌توانند به عنوان جایگزین ایمن پروبیوتیک‌ها معرفی شوند (۱۰). مجموعه‌ای از شواهد به دست آمده، وجود یک ارتباط منسجم بین میکروبیوتای مفید روده (پست بیوتیک‌ها)، عملکرد بهینه سیستم ایمنی و برقراری وضعیت هومئوستازیس در میزبان راتایید کرده اند (۱۱).

نتایج مطالعات در سال‌های اخیر نشان دهنده این است که بخش عمده‌ای از اثرات تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی توسط پست بیوتیک‌های مشتق شده از باکتری‌های اسید لاکتیک با سلول‌های اپیتلیال و سیستم ایمنی در ارتباط بوده و موجب فعال‌سازی ایمنی ذاتی و متعاقباً راه‌اندازی پاسخ دفاعی آنی در میزبان می‌شوند (۱۲).

توانایی پست بیوتیک‌ها در حفظ سلامتی میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا از طریق مهار چسبندگی و کلونیزاسیون، پیشگیری از تهاجم به سایر بافت‌ها، مهار تشکیل بیوفیلم و همچنین بهبود عملکرد سیستم ایمنی در ایجاد پاسخ‌های مناسب ایجاد می‌گردد (۱۳، ۱۴).

در میان باکتری‌های منتقل شده از طریق غذا، سالمونلا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و از مهم‌ترین باکتری‌های مولد بیماری‌های اسهالی، عامل تیفوئید، باکتریمی، انتروکولیت می‌باشد (۱). بیماری‌های ناشی از سالمونلاها معضل بزرگ بهداشتی در جهان به خصوص در کشورهای در حال توسعه از جمله کشور ما محسوب می‌شوند و عفونت‌های سالمونلایی ممکن است به یکی از سه شکل بالینی گاستروانتریت، سپتی سمی با ضایعات موضعی و یا تب روده‌ای مانند بیماری حصبه (تب تیفوئید) تظاهر کند و سالمونلاتیفی موریوم<sup>۱</sup> و سالمونلا انتریتیدیس<sup>۲</sup> سروتایپ‌هایی از سالمونلا هستند که از عوامل سالمونلوزیس در انسان می‌باشند (۲). باکتری سالمونلا هنگامی که از معده به روده وارد می‌گردد، به دیواره متصل و از طریق برخی پروتئین‌های ویژه روده‌ای به درون روده نفوذ و وارد طحال و کبد گردیده و در آن جا تکثیر می‌یابد (۳).

عوارض عصبی ناشی از عفونت سالمونلا در مغز همچنان یک نگرانی جدی است. چنین عفونت‌هایی با دوره‌های عود مکرر، ناهنجاری‌های عصبی همراه با عوارض جانبی شدید مانند اختلالات شنوایی و بینایی، عقب ماندگی ذهنی و پیش‌آگهی ضعیف که منجر به مرگ و میر بالا می‌شود، همراه است (۴). از دیگر علائم این باکتری بروز واکنش‌های التهابی است (۲). به دنبال یک عفونت داخل سلولی، پاپروپتوز که یک نوع شدید التهابی از مرگ برنامه‌ریزی شده سلول است رخ می‌دهد که در ایجاد پاسخ ضد میکروبی نقش دارد (۵).

از راه‌های درمان این عفونت استفاده از آنتی بیوتیک‌هاست اما، استفاده نامناسب و نابه‌جا از آنتی بیوتیک‌ها موجب مقاوم شدن باکتری به آنتی بیوتیک‌ها و برهم خوردن تعادل میکروبیوم‌ها می‌شود (۶). از طرفی سرعت ساخت آنتی بیوتیک قوی‌تر که جایگزین شوند، به هیچ وجه پاسخگوی

<sup>2</sup> *Salmonella Enteritidis*<sup>1</sup> *Salmonella typhimurium*

برویس) به صورت پودر با  $10^{10}$  log از شرکت تک ژن زیست تهیه شد.

### تهیه سالمونلا تیفی موریوم

جهت آلوده نمودن موش های صحرایی، باکتری سالمونلا تیفی موریوم با کد ATCC 14028 تهیه شد.

### روش کشت باکتری

سوش سالمونلا تیفی موریوم در محیط کشت مک کانکی آگار (MacConkey agar) کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت انتقال به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد کلونی ها باکتریایی از نظر میکروسکوپی و ماکروسکوپی و بیوشیمیایی بررسی شدند. جهت انجام آزمایش های تاییدی سالمونلا از گالری ایمویک (IMVIC) استفاده شد (۱۵).

### گروه بندی حیوانات

موش ها در سه گروه هفت تایی تقسیم شدند:

- ۱) گروه کنترل، با آب و غذای پلیت شده تغذیه شدند.
- ۲) گروه آلوده به باکتری سالمونلا تیفی موریوم ( $10^8$ ،  $10^6$ ) (۱۶).
- ۳) گروه آلوده، که مخلوط پست بیوتیک ( $10^9$  cfu/ml) را دریافت کردند (۱۷).

آلوده کرده موش ها به باکتری به روش گاواژ انجام شد. برای تهیه غلظت پست بیوتیک، یک گرم پست بیوتیک در نه سی سی آب مقطر حل گردید و به مدت سی روز در یک ساعت مشخص (هشت صبح) به هر موش از این محلول، یک سی سی گاواژ شد (۱۷). همچنین آلوده کرده موش ها به باکتری نیز به روش گاواژ انجام شد (۱۶). جهت فراهم کردن شرایط مشابه هر سه گروه، به گروه اول و دوم نیز مقداری آب به صورت روزانه به روش گاواژ داده شد.

### سنجش کورتیزول و سروتونین سرمی

بعد از سی روز، موش ها با کتامین زایلازین ۱٪ (کتامین ۸۷ میلی گرم، زایلازین ۱۳ میلی گرم) بیهوش و خونگیری مستقیم از قلب انجام شد (۱۷). پس از خونگیری نمونه های خون با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند

از آنجایی که یکی از پیامدهای عفونت سالمونلوزیس القاء استرس اکسیداتیو بوده و بر هم زدن سیستم دفاعی و آنتی-اکسیدانی بدن است با توجه به کارایی پست بیوتیک ها کاهش دهنده التهاب، تعدیل کننده سیستم آنتی اکسیدانی و تقویت کننده سیستم ایمنی احتمالا یکی از راهکارهای موثر درمانی این عفونت باشد. از آنجا که تاکنون مطالعه ای در ارتباط با بررسی تاثیر مخلوط پست بیوتیک ها لاکتوباسیلوس پلانٹاروم<sup>۱</sup>، لاکتوباسیلوس پاراکازئی<sup>۲</sup> و لاکتوباسیلوس برویس<sup>۳</sup> بر سطح سرمی کورتیزول، سروتونین و برخی از آنتی اکسیدان های بافت مغز در موش های آلوده به سالمونلا صورت نگرفته، لذا هدف از طراحی تحقیق حاضر، بررسی اثربخشی مخلوط پست بیوتیک های فوق الذکر بر فاکتورهای ذکر شده در موش های صحرایی نر آلوده به سالمونلا است.

### مواد و روش ها:

### نگهداری حیوانات

در این مطالعه تجربی ۲۱ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ و سالم با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. به منظور سازش با محیط آزمایشگاه یک هفته پیش از شروع آزمایشات موش ها به حیوان خانه ی دانشکده ی علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی منتقل شدند. نگهداری از حیوانات در شرایط استاندارد، دوره ی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (سیکل طبیعی) در دمای ۲۳±۲ سانتی گراد، درون قفس های پلکسی گلاس مخصوص با دسترسی کافی به آب و غذای مناسب، انجام گرفت. تمامی آزمایش ها منطبق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام و در کلیه روش ها اصول اخلاقی مورد تایید دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی (IR.IAU.CTB.REC.1400.041) رعایت شد.

### تهیه مخلوط پست بیوتیک

مخلوط پست بیوتیک شامل باکتری های (لاکتوباسیلوس پلانٹاروم، لاکتوباسیلوس پاراکازئی و لاکتوباسیلوس

<sup>3</sup> *Lactobacillus brevis*

<sup>1</sup> *Lactobacillus plantarum*

<sup>2</sup> *Lactobacillus paracasei*

۱۰۰ میکرولیتر محلول شماره ۱ و ۱۰ میکرولیتر محلول شماره ۲ به تمامی چاهک ها و میکس شد. میکروپلیت دقیقاً برای ۶۰ ثانیه در  $37^{\circ}\text{C}$  انکوبه شد. ۱۰۰ میکرولیتر محلول شماره ۳ و ۱۰ میکرولیتر محلول شماره ۴ به هر چاهک اضافه و میکس شد. جذب نمونه ها در طول موج ۴۰۵ نانومتر با دستگاه الایزا ریدر اندازه گیری گردید (۱۹).

### سنجش شاخص پراکسیداسیون لیپیدی (MDA)

بمنظور لیز کردن بافت برای سنجش پراکسیداسیون لیپیدی به ترتیب زیر عمل شد: ۵۰ میلی گرم بافت مورد نظر هموژن شد، سپس ۵۰۰ میکرولیتر بافر رپیا به بافت اضافه و بافت با آن لیز گردید، سپس نمونه ها به مدت یک ساعت درون یخچال قرار داده شد. بعد از یک ساعت نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور RPM ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ و محلول رویی به میکروتیوب جدید منتقل و در فریزر  $80^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شد. محلول های مورد نیاز و محلول های استاندارد آماده گردید. تمامی نمونه ها و محلول ها هم دمای محیط شد، ۵۰ میکرولیتر نمونه یا محلول استاندارد به هر میکروتیوب اضافه گردید. ۵۰ میکرولیتر محلول شماره ۴ به هر میکروتیوب اضافه و میکس شد. ۱ میلی لیتر از محلول کروموزنیک به هر میکروتیوب اضافه کرده و میکروتیوب ها به مدت یک ساعت درون آبجوش قرار داده شدند. سپس میکروتیوب ها درون ظرف یخ خنک شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور RPM ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید، ۲۰۰ میکرولیتر از محلول رویی صورتی رنگ به درون چاهک میکروپلیت منتقل شد، جذب نمونه ها در طول موج ۵۳۵ نانومتر اندازه گیری و براساس منحنی استاندارد بدست آمده، غلظت نمونه مورد نظر محاسبه گردید (۱۹).

### سنجش آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

به منظور لیز نمونه های بافتی از بافر لیز موجود در کیت مورد نظر (پارس آزمون) استفاده شد. به ازای هر ۱۰۰ میلی گرم از بافت نمونه، ۵۰۰ میکرولیتر اضافه و هموژنایز گردید. سپس نمونه مورد نظر با دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ و از مایع رویی به عنوان نمونه

و سرم آن ها، جهت اندازه گیری و سنجش فاکتورهای کورتیزول و سروتونین جدا شد. به منظور انجام این آزمایش از کیت تشخیص کمی سرم شرکت پارس آزمون استفاده شد.

برای اندازه گیری سوپراکسید دسموتاز، سطح مالون دی آلدئید و کاتالاز از روش سنجش اتوالایزا استفاده شد. همه کیت های استفاده شده ساخت شرکت Elabscience کشور آمریکا بودند. برای لیز کردن بافت طبق دستور العمل شرکت سازنده کیت ها، ابتدا ۳۰۰ میلی گرم از بافت مغز با یک میلی لیتر محلول PBS به همراه ۱۰۰ میلی گرم گلس هموژنیز در داخل میکروتیوب قرار داده شد. سپس به مدت ۲ دقیقه با دور ۳۰۰۰ تکان در دقیقه هموژنیزه شد و به مدت ۲ دقیقه در داخل ظرف یخ قرار گرفت. پس از آن محلول مورد نظر در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۸ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سپس محلول بالایی برداشته و ارزیابی با دستگاه اتوالایزا انجام گردید (۱۸).

### سنجش سطح سوپراکسید دسموتاز، سطح مالون دی آلدئید و کاتالاز در بافت مغز

کیت های سنجش شامل کیت سنجش مالون آلدئید (MDA)، سوپر اکسید دسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) از شرکت پادگن طب (۴۸ تستی با برند Zellbii-GmbH) خریداری گردید.

### سنجش فعالیت کاتالاز (CAT)

مرحله اول لیز کردن بافت مورد نظر: بدین منظور ۵۰ میلی گرم بافت را هموژن کرده، سپس ۵۰۰ میکرولیتر بافر رپیا به بافت اضافه و بافت را با آن لیز نمودیم، سپس نمونه ها به مدت ۱ ساعت درون یخچال قرار داده شد. بعد از ۱ ساعت نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور RPM ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ و محلول رویی به میکروتیوب جدید منتقل و در فریزر  $80^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شد. محلول های مورد نیاز و محلول های استاندارد آماده گردید. تمامی نمونه ها و محلول ها هم دمای محیط شد. ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه درون هر چاهک میکروپلیت اضافه شد. سپس ۱۰ میکرولیتر نرمال سالین بعنوان بلانک (شاهد) درون یک چاهک اضافه گردید. سپس

### ملاحظات اخلاقی:

پروپوزال این مطالعه، توسط کمیته اخلاق دانشگاه تهران- مرکزی مورد تایید قرار گرفته است (کد اخلاق PIR.IAU.CTB.REC.1400.041)

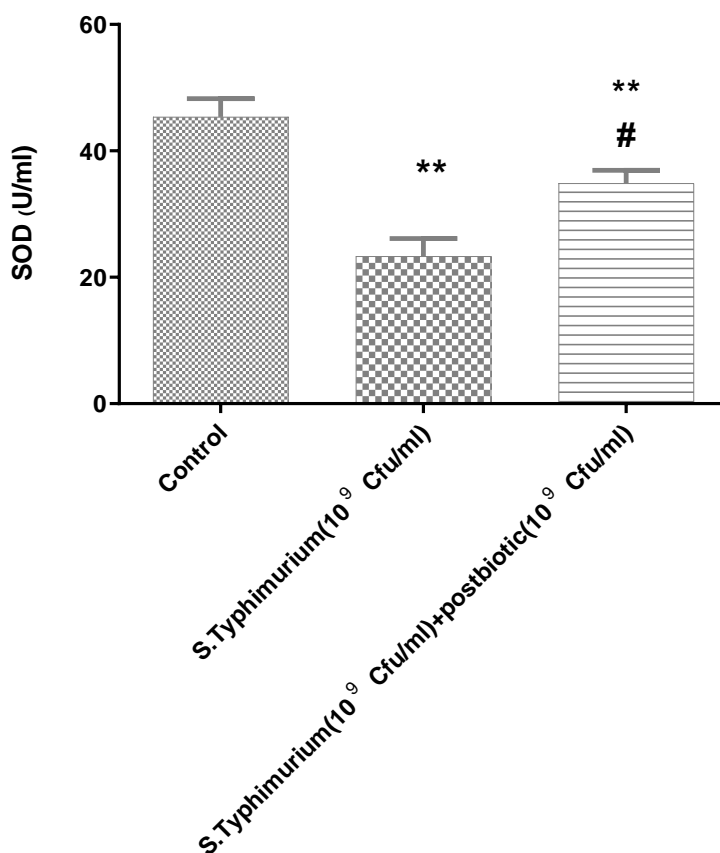
### نتایج:

با توجه به نمودار ۱ و ۲ سطح سوپراکسیددسموتاز و کاتالاز در بافت مغزی گروه دریافت کننده باکتری سالمونلا تیفی موریوم و مخلوط پست بیوتیک + باکتری سالمونلا تیفی موریوم در مقایسه با گروه کنترل کاهش معناداری را نشان داد ( $P < 0.01$ ). در حالیکه نتایج در گروه دریافت کننده مخلوط پست بیوتیک + باکتری سالمونلا تیفی موریوم در مقایسه با گروه آلوده افزایش معناداری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).

استفاده شد. نحوه آماده سازی محلول ها: R1 (10X): برای هر ۱۰ نمونه ۲۰۰ میکرولیتر از R1 را با ۱/۸ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و pH به ۸/۲ رسید. R2: برای هر ۱۰ نمونه، ۵ میکرولیتر از محلول R2a با ۴۹۵ میکرولیتر از معرف R2b مخلوط و به صورت کامل ورتکس گردید (۱۹).

### تحلیل داده ها:

توزیع طبیعی داده ها توسط آزمون کولموگروف- اسمیرنوف انجام گرفت ( $P > 0.05$ ). تحلیل و تفسیر داده های آماری با استفاده از نرم افزار - SPSS باورژن ۲۶ (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) و آزمون آماری واریانس یک طرفه صورت گرفت. نتایج براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار محاسبه و اختلاف معنادار بین گروه ها ( $P < 0.05$ ) در نظر گرفته شد.

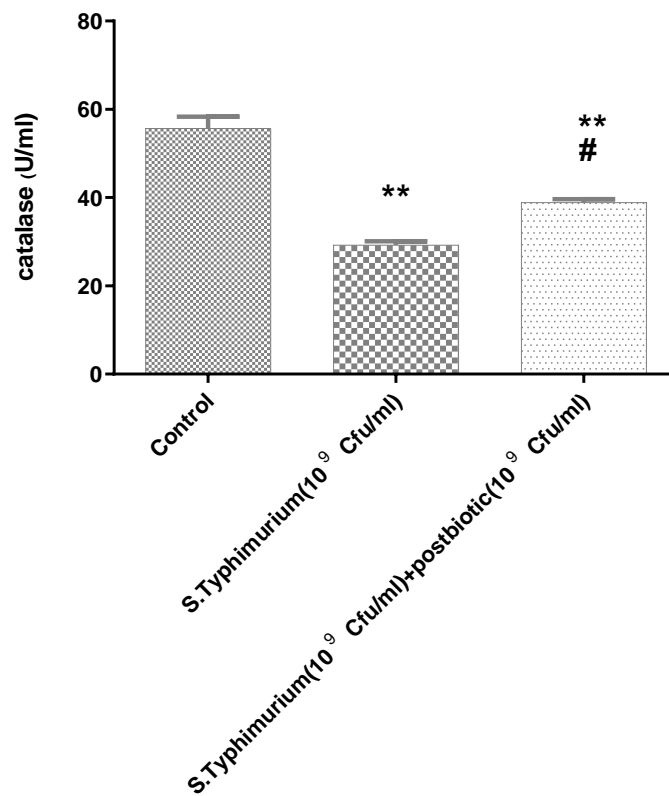


نمودار ۱. مقایسه سطح سوپراکسید دسموتاز بافت مغز در گروه های مختلف

نتایج براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار

$P < 0.01$  \*\*: مقایسه با گروه کنترل

#  $P < 0.05$ : مقایسه با گروه آلوده به باکتری سالمونلا تیفی موریوم



## نمودار ۲. مقایسه سطح کاتالاز بافت مغز در گروه‌های مختلف

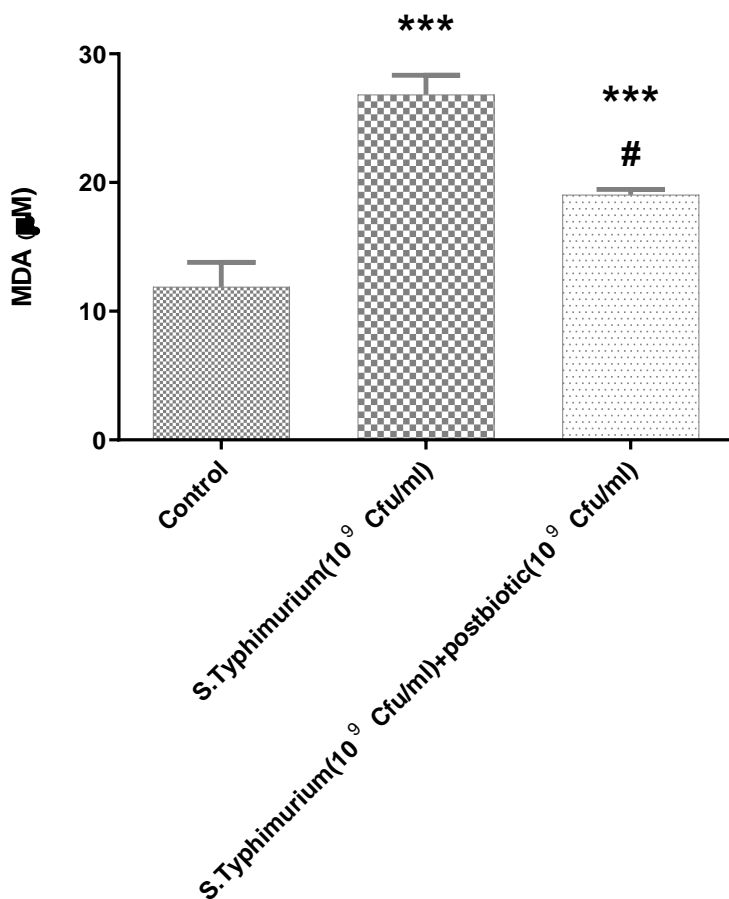
نتایج براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار

$P < 0.01$  \*\*: مقایسه با گروه کنترل

#  $P < 0.05$ : مقایسه با گروه آلوده به باکتری سالمونلا تیفی موریوم

گروه دریافت کننده مخلوط پست‌بیوتیک + باکتری سالمونلا تیفی موریوم، با گروه آلوده به باکتری سالمونلا تیفی موریوم کاهش معناداری مشاهده شد.

نمودار ۳ سنجش میزان مالون دی آلدهید مغزی نشان داد که گروه دریافت کننده باکتری سالمونلا تیفی موریوم و تیمار در مقایسه با گروه کنترل نیز افزایش معنادار و در مقایسه‌ی



### نمودار ۳. مقایسه سطح مالون دی الدهید بافت مغز در گروه های مختلف

نتایج براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار

\*\*\* $P < 0.001$ : مقایسه با گروه کنترل

# $P < 0.05$ : مقایسه با گروه آلوده به باکتری سالمونلا تیفی موریوم

به باکتری کاهش و افزایش معناداری مشاهده شد.

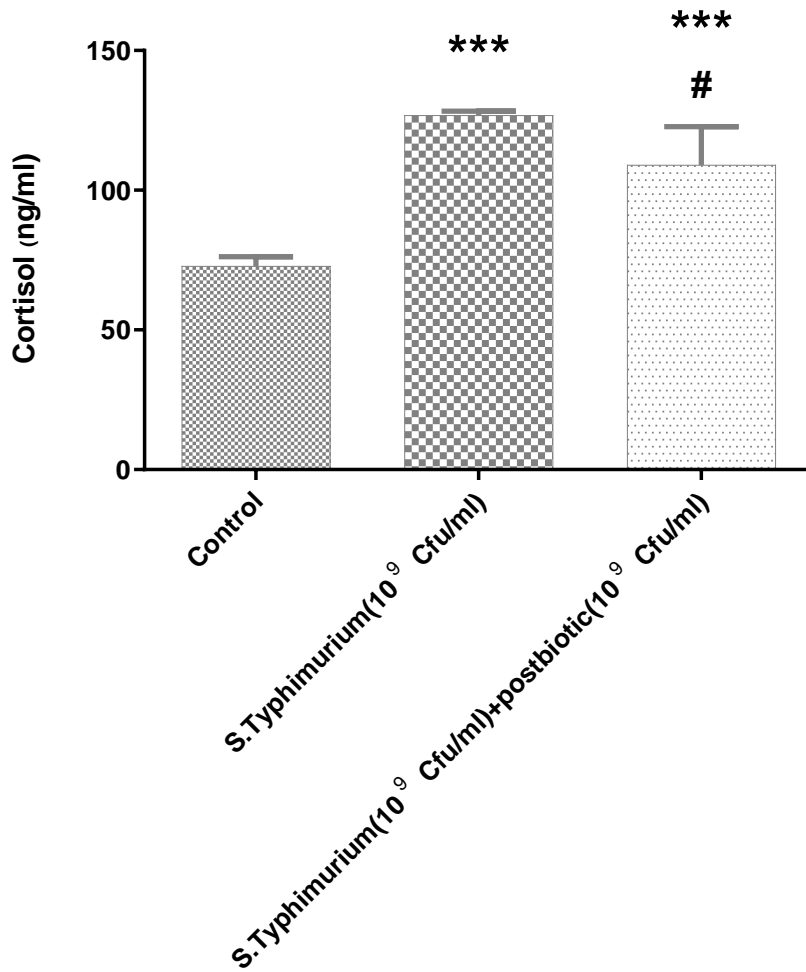
نمودار ۴ و ۵ سنجش سرمی کورتیزول و سروتونین مغزی

نشان داد که گروه دریافت کننده باکتری سالمونلا

تیفی موریوم و تیمار در مقایسه با گروه کنترل نیز افزایش و

کاهش معنادار و در مقایسه ی گروه دریافت کننده مخلوط

پست بیوتیک+ باکتری سالمونلا تیفی موریوم، با گروه آلوده

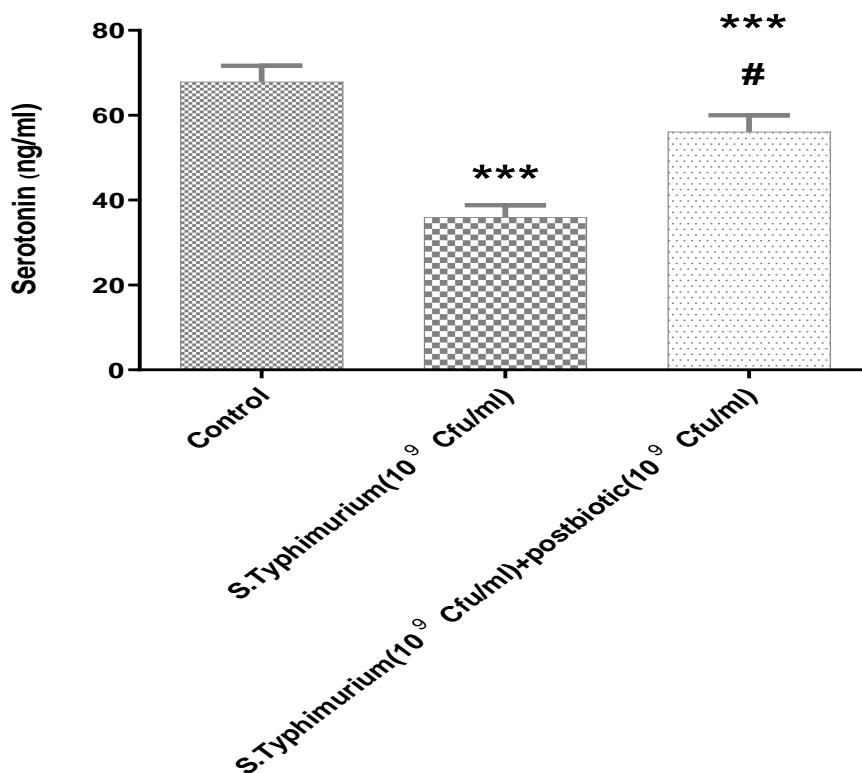


نمودار ۴. مقایسه سطح سرمی کورتیزول در گروه‌های مختلف

نتایج براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار

\*\*\*  $P < 0.001$ : مقایسه با گروه کنترل

#  $P < 0.05$ : مقایسه با گروه آلوده به باکتری سالمونلا تیفی موریوم



#### نمودار ۵. مقایسه سطح سرمی سروتونین در گروه های مختلف

نتایج براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار

\*\*\*  $P < 0.001$ : مقایسه با گروه کنترل

#  $P < 0.05$ : مقایسه با گروه آلوده به باکتری سالمونلا تیفی موریوم

در آلودگی های باکتریایی، استرس اکسیداتیو باعث تولید انواع گونه های اکسیژن آزاد از جمله رادیکال آزاد هیدروکسیل و آنیون های سوپراکسید می شود. مطالعات تحقیقاتی مختلف گزارش کردند که افزایش ROS می تواند به ماکرومولکول های بیولوژیکی مانند پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب برساند، در نتیجه منجر به ایجاد آسیب شود، از این رو افزایش استرس اکسیداتیو در عفونت ها بر وقوع التهاب، آسیب سلولی و حساسیت به بیماری در بدن تأثیر می گذارد (۲۰).

#### بحث:

در پژوهش حاضر تأثیر مخلوط پست بیوتیک بر سطح کورتیزول و سروتونین و برخی شاخص های بیوشیمیایی بافت مغز در موش های صحرایی آلوده به باکتری سالمونلا تیفی موریوم بررسی شد.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در گروه آلوده به باکتری سطح سوپراکسید سموتاز و کاتالاز بافت مغز کاهش و سطح مالون دی آلدئید گروه آلوده به باکتری افزایش یافت در حالیکه در گروه تیمار با پست بیوتیک نتایج حاصل افزایش و کاهش معنا دار را نشان داد. همچنین سطح سرمی کورتیزول و سروتونین در گروه آلوده افزایش و در گروه تیمار کاهش معناداری را نشان داد.

سلولی، اسیدلیپوتیکوئیک و پپتیدوگلیکان نسبت می‌دهند که موجب کاهش تولید اینترکونین ۸ (IL-8) (سیتوکین پیش التهابی) در سلول‌های اپیتلیال می‌شوند (۲۵).

پست بیوتیک‌ها منبع طبیعی ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که می‌توانند به طور ایمن استرس را کاهش دهند و سلامت حیوانات را بهبود بخشند (۲۶).

تحقیقات نشان داده است مکانیسم اثر پست بیوتیک‌ها با پروبیوتیک‌ها متفاوت نیست، زیرا همان متابولیت‌های ثانویه پروبیوتیک‌ها در پست بیوتیک‌ها وجود دارد (۲۷).

پست بیوتیک‌ها حاوی چندین ترکیب ضد میکروبی از جمله باکتریوسن‌ها و اسیدهای آلی هستند که می‌توانند PH روده را به حداقل برسانند و از رشد پاتوژن‌ها در غذا و روده حیوانات جلوگیری کنند (۲۸).

نتایج خاصا از پژوهش‌ها گزارش داده است که پست بیوتیک تولید شده توسط لاکتوباسیلوس پلاتناروم منجر به کاهش اکسیداسیون پروتئین‌ها و لیپیدها می‌شود (۲۹، ۳۰).

همچنین در مورد مکانیسم احتمالی دیگر برای عملکرد پست بیوتیک‌ها می‌توان به: فعالیت زیستی پست بیوتیک‌ها در حمایت از وضعیت سلامتی میزبان در قبال اجرام بیماری‌زا، می‌توان به نقش آنها در مهار چسبندگی و کلونیزاسیون، پیشگیری از تهاجم به سایر بافت‌ها، مهار تشکیل بیوفیلم و همچنین بهبود عملکرد سیستم ایمنی در ایجاد پاسخ‌های مناسب اشاره کرد. در این جهت در مطالعه‌ای در شرایط برون تنی، تأثیر پست بیوتیک‌های مشتق شده از لاکتوباسیلوس پلاتناروم بررسی شد و نتایج حاکی از اثرات مثبت پست بیوتیک‌ها به عنوان عامل مهار در کاهش توانایی چسبندگی و تهاجمی لیستریا بود (۳۱).

علاوه بر این، مطالعات همچنین نشان داد که تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی پست بیوتیک‌ها به مکانیسم‌هایی مانند توانایی کیلاسیون یون فلزی، سیستم آنزیم آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی موجود در پست بیوتیک بستگی

در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۱۵ توسط پیر<sup>۱</sup> و همکاران اثرات باکتری سالمونلا بر فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی در شربت درون زای گزارش داده شده که نتایج حاصل از این مطالعه نیز همسو با مطالعات پیشین بود (۲۱).

همچنین در پژوهش انجام شده توسط<sup>۲</sup> جینکویمترو همکاران در سال ۲۰۲۳ برهم خوردن تعادل سیستم آنتی‌اکسیدانی در موش‌های صحرایی آلوده به سالمونلا گزارش داده شد (۲۲).

در بخش دیگری از این تحقیق گروه‌های دریافت‌کننده باکتری مخلوط پست بیوتیک را دریافت کردند که نتایج حاصل از بررسی این گروه تغییرات موثر و مفید در سطح کورتیزول و سروتونین سرمی و همینطور سطح سوپراکسیددسموتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدهید را در مقایسه با گروه آلوده به باکتری نشان داد.

پژوهش انجام شده توسط چوندیک<sup>۳</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان داد علاوه بر باکتری‌های اسیدلاکتیک، پست بیوتیک‌های مشتق شده از گونه‌های بیفیدوباکتریوم نیز می‌توانند به طور موثری در جهت ارتقاء سلامت میزبان عمل کنند. در این رابطه پست بیوتیک‌های مشتق شده از بیفیدوباکتریوم BB12 به طور چشمگیری از تشکیل و توسعه بیوفیلم‌های استرپتوکوکوس موتانس<sup>۴</sup> در حفره دهانی پیشگیری کردند (۲۳).

در پژوهش انجام شده توسط مرادی و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش داده شد که در یک مطالعه در مدل برونزی پست بیوتیک‌های مشتق شده از لاکتوباسیلوس پلاتناروم در مجاورت با سلول‌های اپیتلیال قرار گرفته و به طور موثری توانایی چسبندگی و تهاجمی سالمونلا را کاهش داده بودند (۲۴).

در مطالعات لویز<sup>۵</sup> و همکاران، توانایی پست بیوتیک‌ها در کاهش پاسخ‌های التهابی را به حضور ترکیباتی مانند دیواره

<sup>4</sup> *Streptococcus mutans*

<sup>5</sup> Lopez

<sup>1</sup> Pierre

<sup>2</sup> Djenguemtar

<sup>3</sup> Schwendicke

همچنین پست بیوتیک های مشتق شده از گونه های مختلف بیفیدوباکتریوم نقش بسزایی در اثربخشی روند درمانی کولیت از طریق مهار تولید سیتوکینهای پیش التهابی (اینترلوکین ۸) و تحریک تولید سیتوکین های ضد التهابی (اینترلوکین ۱۳) از خود نشان می دهند (۳۴).

پست بیوتیک ها معمولا با مکانیسم های عمل مشابه یا متفاوت از سلولهای والد خود، اثرات سلامت بخش و درمانی خود را بروز می کنند. در رابطه با فعالیت زیستی پست بیوتیک ها در تعدیل عملکرد سیستم ایمنی، وجود یک رابطه مستقیم و پیچیده بین جمعیت میکروبیوتای روده (پروبیوتیک ها)، کارکرد بهینه سیستم ایمنی و ایجاد شرایط هومئوستازیس در بسیاری از مطالعات بالینی بررسی شده است.

### نتیجه گیری:

نتایج حاصل از این تحقیقی نشان می دهد مصرف مخلوط پست بیوتیک بر سطح کورتیزول و سرتونین و برخی شاخص های بیوشیمیایی بافت مغز در موش های صحرایی آلوده به باکتری سالمونلا تیفی موریوم اثر بهبودی داشته و با توجه به اینکه امروزه همگام با افزایش آگاهی مصرف کنندگان و ترجیح دادن به مصرف غذاهایی با ترکیبات طبیعی با اثرات سلامت بخشی و همچنین از سوی دیگر نتایج امیدبخش مطالعات در مدل های آزمایشگاهی و شرایط بالینی در مورد اثربخشی این ترکیبات و به کارگیری آنها در رژیم غذایی، زمینه را برای رشد و توسعه انواعی از فرآورده های غذایی فراسودمند محیا شده است. از این رو، مصرف چنین ترکیباتی در کنار ارتقا سلامت آنها در در بهبود آسیب های ایجاد شده در بافت های نیز می تواند موثر باشد اگرچه نتیجه گیری قطعی این اثر نیازمند بررسی فاکتورها و مسیرهای ژنی و مولکولی مختلف نیز می باشد.

دارد، احتمالا می توان از پست بیوتیک به عنوان مکمل و افزودنی خوراک برای جلوگیری از التهاب ناشی از بیماری های ناشی از استرس اکسیداتیو استفاده کرد (۳۲).

بنابراین با توجه به ویژگی های مطلوب پست بیوتیک ها از جمله غیرسمی بودن این ترکیبات، هضم و جذب مناسب، ماندگاری بالا، سهولت در استانداردسازی و حمل و نقل، می توانند در قالب انواع مختلفی از سیستم های تحویل از جمله غذاهای فراسودمند جهت افزایش مدت زمان نگهداری مواد غذایی و ارزش تغذیه ای آن، ارتقا وضعیت سلامت میزبان و پیشگیری از برخی بیماری ها به کار گرفته شوند.

یک مطالعه نسبت بین سلول های زنده (پروبیوتیک) و غیرزنده (پست بیوتیک) در یک فرآورده غذایی پروبیوتیکی به منظور تعیین اثربخشی دو جزء زنده و غیرزنده، اندازه گیری شد و نتایج حاکی از حضور سلول های غیرزنده در مقیاس زیادتری نسبت به سلول های زنده بود. این امر بیانگر این می باشد که بخش عمده ای از اثرات سلامت بخش فرآورده های حاوی پروبیوتیک مربوط به حضور ترکیبات پست بیوتیک در آنها می باشد (۳۳).

بنابراین می توان پست بیوتیک ها را به عنوان اجزای عملکردی غیرزنده سلول های پروبیوتیکی نام برد که به طور معمول توسط باکتری های زنده در طی فرآیند تخمیر و یا در مقیاس آزمایشگاهی با روش های فیزیکی و شیمیایی مختلف تولید می شوند و چنانچه در مقدار کافی دریافت شوند، اثرات سلامت بخش از خود در میزبان بر جای می گذارند.

در رابطه با فعالیت زیستی پست بیوتیک ها در تعدیل پاسخ های التهابی، طبق نتایج مطالعات بالینی، پست بیوتیک ها توانایی چشمگیری در کاهش پاسخ های التهابی ایجاد شده توسط ترکیباتی مانند از خود نشان می دهند (۳۳).

1. Cui M, Tang G, Yan F, Wang S, Wang X, Yao J, Xu X. Oral administration of heat-inactivated *Escherichia coli* during suckling alleviated *Salmonella typhimurium*-derived intestinal injury after rat weaning. *Frontiers in Immunology*. 2023; 5;14:1119747.
2. Guo H, Jin W, Liu K, Liu S, Mao S, Zhou Z, Xie L, Wang G, Chen Y, Liang Y. Oral GSH exerts a therapeutic effect on experimental *Salmonella* meningitis by protecting BBB integrity and inhibiting *Salmonella*-induced apoptosis. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2023;18(1):112-126.
3. Lin Y, Xie Z, Li Z, Yuan C, Zhang C, Li Y, Xie K, Wang K. Assessment of the role and mechanism of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* isolated from neonates' feces in protecting neonatal rats from *Salmonella* infection. *Microbial Pathogenesis*. 2023 ; 1;174:105935.
4. Abdalhamed AM, Zeedan GS, Dorgham SM, Ghazy AA. In vivo experimentally study the effect of *Nigella Sativa* silver nanoparticles for treatment of salmonella species causing diarrhea in ruminants. *Microbial Pathogenesis*. 2023 ; 1;180:106133.
5. Yu C, Chen P, Miao L, Di G. The role of the NLRP3 inflammasome and programmed cell death in acute liver injury. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(4):3067.
6. Galán-Relaño Á, Valero Díaz A, Huerta Lorenzo B, Gómez-Gascón L, MenaRodríguez MÁ, Carrasco Jiménez E, Rodriguez FP, Astorga Márquez RJ. *Salmonella* and salmonellosis: an update on public health implications and control strategies. *Animals*. 2023; 13(23): 3666.
7. Wu H, Ma Y, Peng X, Qiu W, Kong L, Ren B, Li M, Cheng G, Zhou X, Cheng L. Antibiotic-induced dysbiosis of the rat oral and gut microbiota and resistance to *Salmonella*. *Archives of Oral Biology*. 2020;114:104730.
8. Feng C, Peng C, Zhang W, Zhang T, He Q, Kwok LY, Zhang H. Postbiotic Administration Ameliorates Colitis and Inflammation in Rats Possibly through Gut Microbiota Modulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2024;72(16):9054-9066.
9. El Far MS, Zakaria AS, Kassem MA, Wedn A, Guimei M, Edward EA. Promising biotherapeutic prospects of different probiotics and their derived postbiotic metabolites: in-vitro and histopathological investigation. *BMC microbiology*. 2023;23(1):122.
10. Martínez-Ruiz S, Olivo-Martínez Y, Cordero C, Rodríguez-Lagunas MJ, Pérez-Cano FJ, Badia J, Baldoma L. Microbiota-Derived Extracellular Vesicles as a Postbiotic Strategy to Alleviate Diarrhea and Enhance Immunity in Rotavirus-Infected Neonatal Rats. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024 ; 25(2):1184.
11. Odriozola A, González A, Odriozola I, Álvarez-Herms J, Corbi F. Microbiome-based precision nutrition: Prebiotics, probiotics and postbiotics. *Advances in Genetics*. 2024 ; 111:237-310.
12. Thorakkattu P, Khanashyam AC, Shah K, Babu KS, Mundanat AS, Deliephan A, Deokar GS, Santivarangkna C, Nirmal NP. Postbiotics: current

- trends in food and pharmaceutical industry Foods. 2022;11(19):3094.
13. Montazeri-Najafabady N, Ghasemi Y, Dabbaghmanesh MH, Ashoori Y, Talezadeh P, Koohepyma F, Abootalebi SN, Gholami A. Exploring the bone sparing effects of postbiotics in the post-menopausal rat model. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2021;21(1):155.
  14. Pimentel TC, Cruz AG, Pereira E, da Costa WK, da Silva Rocha R, de Souza Pedrosa GT, dos Santos Rocha C, Alves JM, Alvarenga VO, Sant'Ana AS, Magnani M. Postbiotics: An overview of concepts, inactivation technologies, health effects, and driver trends. *Trends in Food Science & Technology*. 2023;138:199-214.
  15. Zhao T, Doyle MP, Harmon BG, Brown CA, Mueller PO, Parks AH. Reduction of carriage of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 in cattle by inoculation with probiotic bacteria, *Journal of clinical microbiology*. 1998; 36(3) : 641–647.
  16. Won G, Lee JH. Salmonella Typhimurium, the major causative agent of foodborne illness inactivated by a phage lysis system provides effective protection against lethal challenge by induction of robust cell-mediated immune responses and activation of dendritic cells. *Veterinary Research*. 2017;48(1):66.
  17. Dashtbani S, Keshtmand Z. A Mixture of Multi-Strain Probiotics (*Lactobacillus Rhamnosus*, *Lactobacillus Helveticus*, and *Lactobacillus Casei*) had Anti-Inflammatory, Anti-Apoptotic, and Anti-Oxidative Effects in Oxidative Injuries Induced By Cadmium in Small Intestine and Lung. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2023 ;15(2):226-238.
  18. Correia AS, Vale N. Advancements Exploring Major Depressive Disorder: Insights on Oxidative Stress, Serotonin Metabolism, BDNF, HPA Axis Dysfunction, and Pharmacotherapy Advances. *International Journal of Translational Medicine*. 2024 ; 4(1):176-196.
  19. Sincihu Y, Lusno MF, Mulyasari TM, Elias SM, Sudiana IK, Kusumastuti K, Sulistyorini L, Keman S. Wistar rats hippocampal neurons response to blood low-density polyethylene microplastics: a pathway analysis of SOD, CAT, MDA, 8-OHdG expression in hippocampal neurons and blood serum A $\beta$ 42 levels. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2023 ; 31:73-83.
  20. Men Q, Zhang P, Zheng W, Song S, Ai C. Fucoidan alleviates Salmonella-induced inflammation and mortality by modulating gut microbiota and metabolites, protecting intestinal barrier, and inhibiting NF- $\kappa$ B pathway. *Food Bioscience*. 2023 ; 56:103209.
  21. Siméon Pierre Chegaing Fodouop, Donatien Gatsing, Benjamin Talom Tangué, Richard Simo Tagné, Sédric Donald Tala, Joseph Tchoumboué, Jules Roger Kuate, Effect of Salmonella typhimurium infection on rat's cell oxidation and in vivo antioxidant activity of *Vitellaria paradoxa* and *Ludwigia abyssinica* aqueous extract, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2015;5(1): 38-46.
  22. Djenguemtar J, Goka MS, Noubom M, Konack EY, Kamsu GT, Sokoudjou JB, Feudjio HB, Kodjio N, Gatsing D. In vivo Antisalmonellal and Antioxidant Activity of Hydroethanolic Extract of *Bauhinia rufescens* Leaves in Wistar Albino Rats Infected with *Salmonella Typhi*. *Microbiological Research* . 2023;33(2):39-53.

23. Schwendicke F, Horb K, Kneist S, Dörfer C, Paris S. Effects of heat-inactivated Bifidobacterium BB12 on cariogenicity of Streptococcus mutans in vitro Archives of Oral Biology. 2014;59(12):1384-1390.
24. Moradi M, Mardani K, Tajik H. Characterization and application of postbiotics of Lactobacillus spp. on Listeria monocytogenes in vitro and in food models. LWT. 2019 ;111:457-464.
25. Lopez M, Li N, Kataria J, Russell M, Neu J. Live and ultraviolet-inactivated Lactobacillus rhamnosus GG decrease flagellin-induced interleukin-8 production in Caco-2 cells. Journal of Nutrition. 2008;138(11):2264-2268.
26. Wang S, Wang P, Wang D, Shen S, Wang S, Li Y, Chen H. Postbiotics in inflammatory bowel disease: efficacy, mechanism, and therapeutic implications. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2024.
27. Liang B, Xing D. The current and future perspectives of postbiotics. Probiotics and Antimicrobial Proteins. 2023;15(6):1626-1643.
28. Chang HM, Loh TC, Foo HL, Lim ET. Lactiplantibacillus plantarum postbiotics: alternative of antibiotic growth promoter to ameliorate gut health in broiler chickens. Frontiers in Veterinary Science. 2022 ; 9:883324.
29. Gu Z, Meng S, Wang Y, Lyu B, Li P, Shang N. A novel bioactive postbiotics: From microbiota-derived extracellular nanoparticles to health promoting. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2023 ; 63(24):6885-6899.
30. Rocchetti MT, Russo P, De Simone N, Capozzi V, Spano G, Fiocco D. Immunomodulatory activity on human macrophages by cell-free supernatants to explore the probiotic and postbiotic potential of Lactiplantibacillus plantarum strains of plant origin. Probiotics and Antimicrobial Proteins. 2024 ;16(3):911-926.
31. Correia LF, Iacia MV, Gervasoni LF, de Oliveira Vieira KC, Saeki EK, Winkelströter LK. Postbiotics produced by lactic acid bacteria: Current and recent advanced strategies for combating pathogenic biofilms. In Microbial Biofilms 2022 ; 17 : 277-302.
32. Aghebati-Maleki L, Hasannezhad P, Abbasi A, Khani N. Antibacterial, antiviral, antioxidant, and anticancer activities of postbiotics: a review of mechanisms and therapeutic perspectives. Biointerface Research in Applied Chemistry. 2021;12(2):2629-2645
- Yang X, Li L, Duan Y, Yang X. Antioxidant activity of Lactobacillus plantarum JM113 in vitro and its protective effect on broiler chickens challenged with deoxynivalenol. Journal of Animal Science. 2017;95:837-46.
33. Yeşilyurt N, Yılmaz B, Ağagündüz D, Capasso R. Involvement of probiotics and postbiotics in the immune system modulation. Biologics. 2021 ; 1(2):89-110.
34. Averina OV, Poluektova EU, Marsova MV, Danilenko VN. Biomarkers and utility of the antioxidant potential of probiotic Lactobacilli and Bifidobacteria as representatives of the human gut microbiota. Biomedicine. 2021 ; 9(10):1340.

## The effect of postbiotic mixture on brain biochemical indices in rat infected with *Salmonella Typhimurium* infection

Zahra Keshtmand<sup>1\*</sup>, Leila Rad<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

### Abstract

The aim of this research is to investigate the effect of antioxidant activities of postbiotic mixture (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus brevis*) on the brain tissue infected with *Salmonella typhimurium* bacteria in male Wistar rats. In this experimental study, 21 male Wistar rats were divided into three groups, including the control group, infected with *Salmonella typhimurium* ( $10^8$  CFU/ml) and the infected model + postbiotic recipient ( $10^9$  CFU/ml). Induction of infection was done by intraperitoneal injection and receiving postbiotic for 30 days by gavage method. After the treatment period, to measure the level of serum cortisol and serotonin, blood was taken from the heart area and brain tissue was extracted to check the level of antioxidant activity of SOD, CAT and MDA in different groups. Data analysis in different groups was done with SPSS software and one-way variance statistical test and  $p < 0.05$  was considered significant. The results showed a significant change in the activity level of cortisol, serotonin, SOD, CAT and MDA in the infected groups compared to the control group ( $P < 0.001$ ). While the increase in the level of serotonin, SOD, CAT and the decrease of cortisol and MDA in the treated groups compared to the infected group were shown significantly ( $P < 0.05$ ). Based on the obtained results, the postbiotic mixture (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus brevis*) showed a modulating effect on the antioxidant activity of the brain tissue of rat infected with bacteria. Therefore, it may be used as a promising therapeutic tool.

**Key words:** Postbiotic, antioxidant, cortisol, serotonin, Brain, *Salmonella typhimurium*, rat.

---

\* Zkeshtmand2001@gmail.com