

تأثیر مخلوط پروپیوتیک‌های بومی ایرانی (لاکتوباسیلوس رامنوسوس، لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس هلوتیکوس) بر تغییرات بافت کبد موش‌های صحرایی نر در معرض کلرید کادمیوم

آرزو کهن^۱، زهرا کشتمند*

^۱گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۰

چکیده

پروپیوتیک‌ها ارگانیسم‌های مفید می‌باشند که به عنوان یک ابزار مناسب در مقابل جذب و مسمومیت احتمالی با فلزات سنگین قابل استفاده هستند. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر مخلوط پروپیوتیک‌های بومی ایرانی، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس هلوتیکوس بر تغییرات بافت کبد موش‌های صحرایی نر آلوده شده به کلرید کادمیوم است. برای این مطالعه، ۲۱ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستان به ۳ گروه ۷ تایی کنترل، کلرید کادمیوم، کلرید کادمیوم همراه با مخلوط پروپیوتیک‌های بومی ایرانی تقسیم شدند. تزریق کلرید کادمیوم (۳ mg/kg) به صورت داخل صفاقی و گاواز پروپیوتیک‌ها (۱۰^۶ CFU/ml) به مدت ۳۰ روز انجام شد. پس از پایان آزمایش، برای اندازه‌گیری سطح سرمی آنزیم‌های کبدی از قلب خون‌گیری شد. سپس، بافت کبد استخراج و پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین مطالعات هیستولوژیکی کبد انجام شد. داده‌ها بر اساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی، بین گروه‌ها مقایسه شدند. سطح سرمی آنزیم‌های کبدی در گروه دریافت کننده کلرید کادمیوم در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشت. سطح این ماده در گروه تیمار شده با مخلوط پروپیوتیک بومی ایرانی کاهش معناداری را نشان داد. تغییرات مورفولوژیکی بافت کبد نیز کاهش آسیب بافتی را در گروه تیمار با پروپیوتیک‌ها در مقایسه با گروه کلرید کادمیوم نشان داد. با توجه به یافته‌های این پژوهش استفاده از مخلوط پروپیوتیک‌های بومی ایرانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس، لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس هلوتیکوس، می‌تواند سبب بهبود آسیب‌های القایی کلرید کادمیوم در بافت کبد شود.

واژگان کلیدی: پروپیوتیک، کلرید کادمیوم، بافت کبد، موش‌های صحرایی

* zah.keshtmand@iauctb.ac.ir

مقدمه

این فلز سنگین می‌باشد^(۶). در مسمومیت با کادمیوم، سلول‌های کبدی با گذرا زمان دچار مرگ سلولی آپاپتویک می‌شوند. تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی و خدمات اکسیداتیو با مسمومیت کبدی القا شده توسط کادمیوم ارتباط دارد. کادمیوم باعث کاهش محتوى گلوتاتیون در هپاتوسیت‌های جدا شده می‌شود^(۷).

مرگ سلولی و نکروز، خدمات کبدی ایجاد شده ناشی از مواجهه با کادمیوم می‌باشند. محققین عواملی هم چون افزایش تولید گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر(ROS) و به دنبال آن استرس اکسیداتیو ناشی از تولید ROS را در القا اثرات سمی کادمیوم در بافت‌های مختلف دخیل می‌دانند^(۸). بین تولید ROS داخل سلولی و مرگ سلولی برنامه ریزی شده به دنبال ROS مواجهه با کادمیوم ارتباط مستقیم وجود دارد^(۸). القاء مسمومیت کبدی و کلیوی تجربی حاد با تجویز کادمیوم در حیوانات آزمایشگاهی به اثبات رسیده است^{(۹) و (۱۰)}.

اخيراً راهبردهای پیشگیرانه و درمانی مسمومیت با کادمیوم، بر استفاده از ترکیبات با خاصیت و عملکرد آنتی اکسیدانتی متتمرکز شده است^(۱۲). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی با منشأ انسانی یا محیطی و در واقع مکمل میکروبی هستند که با بهبود تعادل میکروبی روده اثرات مفیدی بر سلامت میزان دارند^(۱۱). مصرف مداوم باکتری‌های پروبیوتیک می‌تواند سبب بهبود پاسخ سیستم ایمنی بدن می‌شود. همچنین، در پیشگیری و درمان بیماری‌های کبدی نیز نقش مؤثری دارند. پروبیوتیک‌ها از جذب سوموم جلوگیری کرده و با کاهش جذب سوموم سبب کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو شده، درنتیجه به درمان بیماری‌های کبدی کمک کرده و از ابتلا به بیماری‌های کبدی نیز پیشگیری می‌کنند^(۱۲).

فتحی و همکاران^(۲۰۱۸) گزارش دادند که پروبیوتیک‌های باسیلوس کوآگولانس و باسیلوس کازی ب تحریک ترشح ترکیبات آنتی اکسیدانتی و ضدالتهابی، آسیب‌های القایی

سالانه چندین میلیون تن کادمیوم از فعالیت‌های صنعتی بشر در جهان تولید می‌شود و این مقدار همچنان رو به افزایش است و نتیجه آن آلودگی محیط انسانی با این فلز می‌باشد. توسعه روزافزون صنعت، تکنولوژی و شهرنشینی، در کثار مزایای قابل توجه، منجر به بروز مشکلات خاصی نیز شده است که می‌توان به آلودگی شدید محیط زیست به انواع و فرم‌های مختلف اشاره کرد^{(۱۱) و (۱۲)}.

کادمیوم یکی از آلاینده‌های مهم صنعتی و محیطی است که اثرات زیادی بر روی محیط اطراف دارد. این فلز سنگین و سمی به راحتی توسط گیاهان، حیوانات و میکرووارگانیسم‌ها جذب می‌شود و در دوزهای بالاتر، آسیب‌های حاد سلولی و بافتی در موجود زنده ایجاد می‌کند. این فلز به طور معمول از طریق نوشیدن آب و غذای آلوده و ریه‌ها وارد بدن شده و خاصیت تراتوژنیک و کارسینوژنیک دارد^{(۳)، (۴)}. کادمیوم به دلیل نیمه عمر بالا پس از ورود در بدن اباشته می‌شود. از آنجا که کادمیوم هیچ گونه نقش و وظیفه فیزیکوشیمیایی در بدن انسان ندارد، بنابراین حضور و تجمع آن در بدن عواقب خطرناکی در پی خواهد داشت^(۵). بیشتر کادمیم ورودی به بدن به کلیه‌ها و کبد رفته و برای سال‌های طولانی در آنجا باقی مانده و اندام‌ها را درگیر می‌کند^(۵).

کبد به عنوان اندام خون‌ساز یکی از مهمترین ارگان‌های جانوری است که تحت تأثیر فلزات سنگین دچار عوارض نامطلوبی می‌شود. با نوچه به نقش کبد در سهم زدایی و نگهداری هموستاز متابولیک بدن می‌توان از این بافت به عنوان شاخص مناسبی در مطالعات بافت‌شناسی نام برد. ضایعات اکسیداتیو در بافت‌ها از نشانه‌های زودهنگام مسمومیت با کادمیوم می‌باشد و حال آنکه سلطان‌زایی از عوارض مسمومیت مزمن با کادمیوم محسوب می‌شود. متالوتیونین یک پروتئین متصل شونده به فلزات خصوصاً کادمیوم است. کبد به واسطه توانایی تولید مقادیر زیاد متالوتیونین مهمترین عضو در مسمومیت با

تر اکلرید کرین در بافت موش صحرایی را کاهش داده و سبب بهبود آسیب‌ها می‌شود^(۱۳).

نتایج پژوهش اسلامپرست و همکاران (سال ۱۳۹۰) نشان داد که در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی، مصرف مکمل‌های حاوی پروبیوتیک به مدت ۲۸ هفته، سطح آنزیم‌های کبدی را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد^(۱۴). همچنین، ضیائی و همکاران (سال ۱۳۹۰) در پژوهش خود نشان دادند که مصرف پروبیوتیک و پری‌بیوتیک غلظت آنزیم‌های کبدی را تغییر می‌دهند^(۱۵). با توجه به عملکرد پروبیوتیک‌ها و تأثیر آن‌ها در بافت کبد، در این پژوهش تأثیر مخلوط پروبیوتیک‌های بومی ایرانی بر تغییرات بافت کبد موش‌های صحرایی نر در معرض آلاینده کلرید کادمیوم بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر، ۲۱ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰ gr تا ۲۵۰ تا از انسیتو پاستور ایران خریداری شدند. یک هفته پیش از شروع آزمایش‌ها، موش‌ها برای سازگاری با محیط آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی منتقل شدند. حیوانات در شرایط استاندارد، با دوره‌ی ۱۲ h روشانی و ۱۲ h تاریکی (سیکل طبیعی) در دمای $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ، درون قفسه‌های پلکسی گلاس مخصوص با دسترسی کافی به آب و غذای مناسب نگهداری شدند. تمامی آزمایش‌ها منطبق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و اصول اخلاقی مورد تائید دانشکده‌ی علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی (شاخصه مرکزی) انجام شد.

تهیه مخلوط پروبیوتیک‌های بومی ایران
مخلوط پروبیوتیک‌های بومی ایران شامل
باکتری‌های Lactobacillus و Lactobacillus rhamnosus و **Lactobacillus helveticus** *Lactobacillus casei* CFU به صورت پودر 10^{10} log از شرکت تک‌زن زیست خریداری شد.



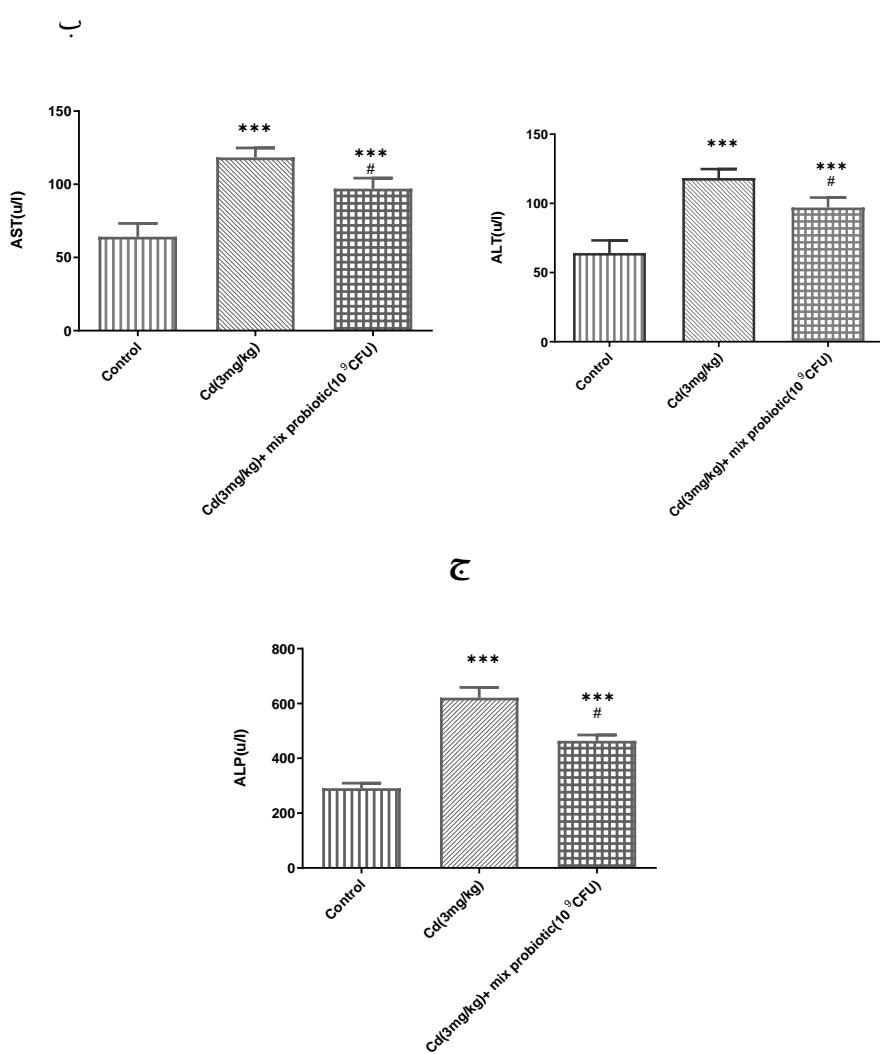
تحلیل آماری

محاسبه آماری این مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS-23 انجام شد و نتایج با آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی بررسی شد. اطلاعات به صورت میانگین \pm انحراف معیار محاسبه و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

سطوح سرمی آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) در گروههای

الف



نمودار ۱. الف) مقایسه میزان ALT، (ب) AST (ج) ALP در گروههای مختلف موش صحرایی نر.

(Cd: کلرید کادمیوم، Mix probiotic: مخلوط پروبیوتیک بومی ایرانی)

** اختلاف معنی دار با گروه کنترل ($p < 0.001$)؛ # اختلاف معنی دار با گروه دریافت کننده کلرید کادمیوم ($p < 0.05$)

جدول ۱. مقایسه میزان درجه آسیب در سلول‌های بافت کبدی در گروه‌های مختلف آزمایش.

پارامترها	گروه کنترل	گروه دریافت کننده	کلریدکادمیوم همراه با مخلوط پروپیوپتیک
		کلریدکادمیوم	
تغییرات مورفولوژیک	-	+++	+
سلول واکویله شده	-	+++	+
سلول چربی	-	+++	+
سلول‌های التهابی	-	+++	+
سلول نکروزی	-	+++	+
نظم سلولی	-	+++	+
طناب سلولی	-	+++	+
اتساع وریدها	-	+++	+
سلول‌های تک‌هسته‌ای	-	+++	+
وریدهای پرخون	-	+++	+
سلول‌های هیدروپاتی	-	+++	+

بدون آسیب ← آسیب خفیف + آسیب متوسط ++ آسیب شدید +++

معیارهای تشخیصی عملکرد کبد و اولین قدم در تشخیص آسیب کبدی است (۱۸). در شرایط عادی، این آنزیم‌ها عمدتاً در سلول‌های کبدی وجود دارند، اما به دنبال آسیب‌های کبدی، این آنزیم‌ها وارد جریان خون می‌شوند. از جمله حساس‌ترین و پرکاربردترین آنزیم‌های کبدی، آمینوتранسفرازها هستند که آسپارتات آمینوتранسفراز (AST) و آلانین آمینوتранسفراز (ALT) را شامل می‌شوند. این آنزیم‌ها معمولاً در سلول‌های کبدی و به میزان کمتری در سلول‌های عضلانی وجود دارند. در صورت آسیب کبد، این آنزیم‌ها از سلول‌های کبدی به خون وارد می‌شوند و سبب افزایش سطح آنزیم AST و ALT و بروز علائم بیماری کبد می‌شوند (۱۹ و ۲۰).

تحقیقات نشان داده است که مسمومیت کبدی القاء شده بواسیله کادمیوم به شکل وابسته به دوز، سبب افزایش غلظت سرمی کبدی آنزیم‌های ALT، AST و ALP می‌شود (۲۰). در مطالعه حاضر نیز به دنبال تجویز کلرید کادمیوم افزایش معنی‌دار آنزیم‌های کبدی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد.

همچنین، برخی ویژگی‌های بافت کبد به لحاظ کیفی و به صورت درجه بندی (بدون آسیب ← آسیب خفیف + آسیب متوسط ++ آسیب شدید +++) در گروه‌های آزمایش بررسی شد (جدول ۱).

بحث

مطالعات بافت شناسی می‌تواند ابزار مفیدی برای ارزیابی آسیب‌های ناشی از فلزات سنگین باشد. در سال‌های اخیر مطالعات متعددی بر روی جنبه‌های مختلف درمانی پروپیوپتیک‌ها انجام شده است. همچنین، استفاده از پروپیوپتیک‌ها جهت بهبود و تخفیف علائم بیماری‌های مختلف از جمله آلودگی با آلاینده‌های زیست محیطی به موضوع مورد علاقه بسیاری از محققان تبدیل شده است (۱۷). در این مطالعه تأثیر مخلوط پروپیوپتیک‌های بومی ایرانی بر تغییرات بافت کبد موش‌های صحرابی نر در معرض آلاینده کلرید کادمیوم ارزیابی شد.

با توجه به سنتر انحصاری آنزیم‌های کبدی در هپاتوسیت‌های کبدی، اندازه‌گیری سطوح آنها یکی از

در بافت کبد در حضور فلزات سنگین است که از آن جمله می‌توان به مطالعه شاپوری و همکاران (سال ۲۰۰۹) در بررسی فلز مس بروی تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت کبد اشاره کرد. آن‌ها بیان داشتند که در غلظت‌های پایین در کبد پرخونی، خونریزی، واکوئل‌های چربی و تجمع گلیکوژن‌ها و در غلظت‌های بالاتر تغییرات سیتوپلاسم، نکروز کانونی و التهاب کپسول کبدی مشاهده می‌شود و آسیب کبدی بیشتر به صورت خونریزی پیش رونده است (۲۴).

Dar و همکاران (سال ۲۰۱۱) با بررسی اثر کلرید کادمیوم بر روی کبد و کلیه گربه‌ماهی آب شیرین *Clarias batrachus* عنوان کردند که تغییرات بافتی در این اندام‌ها به صورت سست شدن بافت کبدی، تغییر شکل هسته و واکوئیزه شدن سیتوپلاسم سلول کبدی مشاهده می‌شود (۲۵). قوامی و همکاران (سال ۲۰۲۰) نیز اثر تخریبی کلرید کادمیوم بر بافت کبد موش‌های صحرایی را گزارش دادند (۲۶).

رمضانی‌فر و همکاران (سال ۲۰۱۵) اثر کورکومین بر سطح آنزیم‌های کبدی موش‌های صحرایی تیمار شده با کلرید کادمیوم را گزارش دادند و اثرات تخریبی کلر در کبد را نشان دادند (۲۷). در پژوهش حاضر نیز در گروه دریافت کننده کلرید کادمیوم تخریب بافت کبد قابل مشاهده بود که با مطالعات قبلی همسو و هم جهت است. تولیدگونه‌های اکسیژن واکنشی و صدمات اکسیداتیو با مسمومیت کبدی القاشهه توسط کادمیوم ارتباط دارد. کادمیوم باعث کاهش محتوى گلوتاتیون در هپاتوسیت‌های جدادشده می‌شود. مرگ سلولی و نکروز، صدمات کبدی ایجاد شده ناشی از مواجهه با کادمیوم هستند. پژوهشگران عواملی همچون افزایش تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) و به دنبال آن استرس اکسیداتیو ناشی از تولید ROS را در القا اثرات سمی کادمیوم در بافت‌های مختلف دخیل می‌دانند (۲۸). بین تولید ROS داخل سلولی و مرگ سلولی برنامه ریزی شده به دنبال در معرض قرار گرفتن با کادمیوم ارتباط مستقیم وجود دارد (۸). از طرف دیگر ثابت شده

هارستاد و همکاران (۲۰۰۲) طی مطالعه‌ای نشان دادند که کلرید کادمیوم از طریق پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشایع موجب ایجاد آسیب در سلول‌های کبد، کلیه و روده می‌شود (۹).

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، میان گروه‌های دریافت کننده کلرید کادمیوم همراه با مخلوط پروپیوتیک نسبت به گروه کلرید کادمیوم سطح آنزیم‌های کبدی اختلاف معنی‌داری مشاهده شد، به طوری که در گروه کلرید کادمیوم همراه با مخلوط پروپیوتیک به طور مؤثری سطح آنزیم‌ها کاهش معنادار را نشان داد ($p < 0.05$).

اسلام و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که سطوح آنزیم‌های کبدی سرم تحت تأثیر پروپیوتیک تغییر می‌کند (۲۱).

همچنین، سیدی بیان و همکاران (سال ۲۰۱۳) با ارزیابی اثرات تأثیر پروپیوتیک‌های لاکتوپاسیلوس کازئی و لاکتوپاسیلوس پاراکازئی به همراه پریپیوتیک رافیلوز، افزایش آنزیم‌های کبدی موش را گزارش دادند (۲۲). نتایج به دست آمده از تأثیر دریافت مخلوط پروپیوتیک‌های بومی در گروه دریافت کننده کلرید کادمیوم در این پژوهش نیز در راستای مطالعات پیشین می‌باشد.

احتمالاً کاهش سطح سرمی آنزیم‌های کبد در گروه دریافت کننده مخلوط پروپیوتیک‌ها به این دلیل است که آن‌ها با ایجاد تعادل روده‌ای و افزایش در قabilت هضم مواد مغذی و افزایش پاسخ ایمنی موجب کاهش تنش‌های ناشی از ترکیبات ضد مغذی موجود در خوراک، کاهش توکسین‌های روده‌ای و شرایط محیطی و بیماری‌ها بر کبد شده و بنابراین با افزایش در کارکردهای آن‌ها سبب کاهش سطح سرمی این آنزیم‌ها می‌شوند (۲۳).

در بخش دیگر این پژوهش، در گروه دریافت کننده کلرید کادمیوم، آثار هیستوپاتولوژیک در بافت کبد مشاهده شد. مطالعات مختلف انجام شده نیز مؤید افزایش آثار مخرب

بر طبق نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر احتمالاً درمان با مخلوط پروپیوتیک‌های بومی ایرانی (*Lactobacillus* و *Lactobacillus rhamnosus* *Bacteria casei bacteria*) اثرات محافظتی بر مسمومیت کبدی القا شده توسط کلرید کادمیوم دارد. پروپیوتیک‌ها احتمالاً با مهار برهم‌کنش‌های شیمیایی رادیکال‌های آزاد ناشی از کلرید کادمیوم به عنوان آغازگر استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپید و تغییرات مولکولی و همچنین با سرکوب روند التهاب بافتی در کبد، اثر حفاظت‌کننده‌گی خود در کبد را اعمال می‌کند.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر از پایان‌نامه دانشجویی در مقطع کارشناسی ارشد گروه زیست‌شناختی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی با کد ثبتی ۱۰۱۲۹۳۳۶۹۸۳۸۱۹۲۱۳۹۹۱۶۲۳۱۲۰۹۲ است.

تعارض منافع

طبق اظهار نویسنده‌گان تعارض در منافع وجود ندارد.

منابع

- 1.Rahimzadeh MR, Rahimzadeh MR, Kazemi S, Moghadamnia AA. Cadmium toxicity and treatment: An update. Caspian journal of internal medicine. 2017;8(3):135-145.
- 2.Lane E, Carty MJ, More SJ. Cadmium exposure and consequence for the health and productivity of farmed ruminants. Research in veterinary Science. 2015;101:132-139.
- 3.Wei B, Yang L. A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China. Microchemical journal. 2010;94(2):99-107.
- 4.Mirzabeygi M, Abbasnia A, Salimi J, Mahvi AH. Determination of the heavy metals concentrations

که تجویز کادمیوم باعث افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیز میزان MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها) و همچنین کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی GPx و SOD می‌شود (۲۹). مطالعات متعدد نشان داده است که تغییر در تعداد و اندازه هسته‌های هپاتوسیت می‌تواند به دلیل افزایش آلائینده‌ها و افزایش فعالیت‌های متابولیکی هسته با منشأ پاتولوژیکی رخ دهد. نکروز در هپاتوسیت‌ها می‌تواند از تجمع آلائینده‌ها و افزایش غلظت آنها در کبد ایجاد شود که سبب کاهش گردش خون و کاهش مواد غذایی در کبد می‌شود. در گروه دریافت کننده کلرید کادمیوم تیمار شده با مخلوط پروپیوتیک‌ها، بهبودی نسبی در آسیب‌های بافت کبد مشاهده شد. همچنین، پروپیوتیک‌ها با جذب روده‌ای آمونیاک و سوم، کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز باکتریایی و کاهش تنش‌های اکسیداتیو ناشی از جذب آمونیاک موجب بهبود عملکرد کبد می‌شوند (۳۰).

mekanizm اثر پروپیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها از سه طریق، تأثیرات آنتی‌میکروبی مستقیم، تقویت تمامیت سد دفاعی مخاطی و تغییرات مطلوب در سیستم ایمنی بدن می‌باشد (۳۱).

پروپیوتیک‌ها در پیشگیری و درمان بیماری‌های کبدی نیز نقش مؤثری دارند. پروپیوتیک‌ها از طریق کاهش فعالیت اوره آز باکتریایی سبب کاهش آمونیاک در سیستم پورتال می‌شوند، همچنین با کاهش pH و کاهش نفوذپذیری روده جذب آمونیاک را کاهش می‌دهند. افزایش آمونیاک خون در بعضی از بیماری‌های کبدی، نارسایی کبد، مسمومیت با اوره رخ می‌دهد و منجر به ضایعات مغزی و عصبی در بیمار می‌شود. پروپیوتیک‌ها از جذب سوم جلوگیری کرده و با کاهش جذب آمونیاک و سوم سبب کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو شده، درنتیجه به درمان بیماری‌های کبدی کمک کرده و از ابتلا به بیماری‌های کبدی نیز پیشگیری می‌کنند (۱۲).

نتیجه‌گیری

- fatty liver disease: a meta-analysis. Euroasian journal of hepatogastroenterology. 2017;7(2):130-137.
13. Pulavendran S, Vignesh J, Rose C. Differential anti-inflammatory and anti-fibrotic activity of transplanted mesenchymal vs. hematopoietic stem cells in carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. International immunopharmacology. 2010;10(4):513-519.
 14. Fathi N, Keshtmand Z, The effect of *Bacillus coagulans* and *Lactobacillus casei* probiotics on liver damage caused by carbon tetrachloride and the activity of liver enzymes in male rats. Journal of Animal Biology .2018;11(4):65-74.
 15. Eslamparast T, Poustchi H, Zamani F, Sharafkhah M, Malekzadeh R, Hekmatdoost A. The effects of dietary symbiotic supplementation on the liver enzymes, inflammatory markers and hepatic fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A double-blind randomized clinical trial. Iranian Journal Nutrition Science Food Technology. 2013; 8 (2) :1-8.
 16. Ziae H, Karimi Torshizi MA, Bashtani M, Naeemipour H, Zeinali, A. Efficiency evaluation of antibiotic growth promoter's alternatives on immune response and some blood metabolites in broiler chickens. Journal of Agriculture and Natural Resources Sciences. 2009;16(2):1-13.
 17. Nazir Y, Hussain SA, Abdul Hamid A, Song Y. Probiotics and their potential preventive and therapeutic role for cancer, high serum cholesterol, and allergic and HIV diseases. BioMed research international. 2018;2018:1-17.
 18. Chater S, Douki T, Garrel C et al. Cadmium-induced oxidative stress and DNA damage in kidney of pregnant female rats. Comptes rendus Biologies. 2008; 331:426-432.
 19. Jalili C, Farzaei MH, Iraj Rashidi I, Mohammadnezamian A, Ghanbari A. Royal jelly protects dichlorvos liver-induced injury in male Wistar rats. Research in Pharmaceutical Sciences. 2022;17(2): 209-218.
 - (lead, Cadmium, Chromium) in rural drinking water supplies of Torbat Heydariyeh city and distribution of GIS. Journal of Research in Environmental Health. 2016;2(2):146-153.
 5. Ahmad B, Qureshi T, Manohar S, Kaur P, Khaliq R. Effect of cadmium chloride on the histoarchitecture of liver and kidney of a freshwater catfish, *Clarias batrachus*. International Journal of Environmental Sciences. 2011;2(2):531-536.
 6. Murugavel P, Pari L. Effects of diallyl tetrasulfide on cadmium-induced oxidative damage in the liver of rats. Human & experimental toxicology. 2007;26(6):527-534.
 7. Ye JL, Mao WP, Wu AL, Zhang NN, Zhang C, Yu YJ, et al. Cadmium-induced apoptosis in human normal liver L-02 cells by acting on mitochondria and regulating Ca²⁺ signals. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2007;24(1):45-54.
 8. Lee WK, Bork U, Thévenod F. Mitochondria as a target of cadmium nephrotoxicity: induction of swelling and cytochrome c release. Toxicology mechanisms and methods. 2004;14(1-2):67-71.
 9. Harstad EB, Klaassen CD. iNOS-null mice are not resistant to cadmium chloride-induced hepatotoxicity. Toxicology. 2002;175(1-3):83-90.
 10. Karadeniz A, Cemek M, Simsek N. The effects of Panax ginseng and *Spirulina platensis* on hepatotoxicity induced by cadmium in rats. Ecotoxicology and environmental safety. 2009;72(1):231-235.
 11. Zendeboodi F, Khorshidian N, Mortazavian AM, da Cruz AG. Probiotic: conceptualization from a new approach. Current Opinion in Food Science. 2020;32:103-123.
 12. Lavekar AS, Raje DV, Manohar T, Lavekar AA. Role of probiotics in the treatment of nonalcoholic

- a Freshwater Catfish, Clarias batrachus. Our Nature. 2011;9(1):83-88.
- 26.Ghavami M, Shariati M, Mokhtari M, Khatamsaz S.The Protective Effects of Hydroalcoholic Extract of Passiflora caerulea Aerial Parts Against Hepatic Dysfunction Induced by Cadmium Chloride in Adult Male Rats. Journal of animal physiology and development .2020;4(51):25-37.
- 27.Ramezanyfard Darabi M, Hemayatkah Jahromi V. Effect of Curcumin on liver enzymes in rats treated with cadmium chloride. Journal of Gorgan University of Medical Sciences. 2018;19(4):21-26.
- 28.Wang S-H, Shih Y-L, Lee C-C, Chen W-L, Lin C-J, Lin Y-S, et al. The role of endoplasmic reticulum in cadmium-induced mesangial cell apoptosis .Chemico-biological interactions. 2009;181(1):45-51.
- 29.Gupta RS, Gupta ES, Dhakal BK, Thakur AR, Ahnn J. Vitamin C and vitamin E protect the rat testes from cadmium-induced reactive oxygen species. Molecules and Cells. 2004;17(1):132-139.
- 30.Yeo J, Kim KI. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. Poultry Science. 1997;76(2):381-385.
- 31.Patel R, DuPont HL. New approaches for bacteriotherapy: prebiotics, new-generation probiotics, and synbiotics. Clinical Infectious Diseases. 2015;60(2): 108-121.
- 20.Rogalska J, Pilat-Marcinkiewicz B, Brzóska MM. Protective effect of zinc against cadmium hepatotoxicity depends on this bioelement intake and level of cadmium exposure: a study in a rat model. Chemico-Biological Interactions. 2011;193(3):191-03.
- 21.Islam M, Rahman M, Kabir S, Kamruzzaman S, Islam M. Effects of probiotics supplementation on growth performance and certain haemato-biochemical parameters in broiler chickens. Bangladesh Journal of Veterinary Medicine. 2004;2(1):39-43.
- 22.Seyed B, Heidary R, Tukmechi A. Dietary effect of L. casei and L. paracasei as probiotic bacteria with Raftilose as peribiotic on the growth and liver enzymes in rat. Razi Journal of Medical Sciences. 2013;20(107):1-9.
- 23.Aziz Mousavi SMA , Mahmoodzadeh Hosseini H , Mirhosseini SA. Review of Dietary Probiotics in Poultry. Journal of Applied Biotechnology Reports. 2018 ;5(2):48-54.
- 24.Shapouri M, Oryan S, Esmaili SARI A. The impact of copper on histopathological point of gonad, liver and muscle tissues of cyprinus carpio. Journal of large animal clinical science research (journal of veterinary medicine). 2009;3(7):23-29.
- 25.Dar B, Qureshi T, Khaliq R. Effect of Cadmium Chloride on the Histoarchitecture of Certain Organs of

The effect of a mixture of native Iranian probiotics (*Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus holoticus*) on liver tissue changes in male rats exposed to cadmium chloride

Arezu kohan¹, Zahra Keshtmand^{1*}

Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Probiotics are beneficial organisms that can be used as a suitable tool against absorption and possible poisoning by heavy metals. The aim of this study was to investigate the effect of a mixture of native Iranian probiotics (*Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus holoticus*) on liver tissue changes in male rats infected with cadmium chloride. 21 adult male Wistar rats were divided into 3 groups of 7: control, cadmium chloride, cadmium chloride with a mixture of native Iranian probiotics. Cadmium chloride (3 mg/kg) was injected intraperitoneal and by probiotic gavage (10^9 CFU/ml) for 30 days. At the end of the test, blood samples were taken from the heart to measure the serum level of liver enzymes, liver tissue was extracted and histological studies of the liver were performed after hematoxylin-eosin staining. Data were compared between groups based on one-way ANOVA and Tukey test. Serum levels of liver enzymes in the group receiving cadmium chloride showed a significant increase compared to the control group and in the group treated with a mixture of native Iranian probiotics showed a significant decrease. Also, morphological changes of liver tissue in the group treated with probiotics showed a decrease in tissue damage compared to the cadmium chloride group. According to the findings of this study, the use of a mixture of native Iranian probiotics (*Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus holoticus*) can improve the induced damage of cadmium chloride in liver tissue.

Keywords: Probiotics, Cadmium chloride, Liver tissue, Rats

*zah.keshtmand@iauctb.ac.ir