Protective effect of lactic acid postbiotic mixture on liver tissue infected with Salmonella typhimurium in male Wistar rats

Zahra Keshtmand[1*], Leila Rad[1]

[1] Departmant of Biology,Central Tehran Branch, Islamic Azad Univercity, Tehran, Iran.

Received Date:2025.01.14 Accepted Date:2025.02.07

Abstract

The aim of this study was to investigate the protective effect of a postbiotic mixture (*Lactobacillus plantarum, Lactobacillus paracasei, and Lactobacillus brevis)* on the liver tissue of rats infected with *Salmonella typhimurium*. In this experimental study, 21 male Wistar rats were divided into three groups including control group, infected with Salmonella Typhimurium CFU/ml (10^8) and infected model + postbiotic recipient (10^9 CFU/ml). Infection induction and postbiotic receipt were performed by gavage method. After the treatment period and dissection of the rats, liver tissue was extracted for histological examination in different groups. Then, different stages of tissue preparation were performed and histopathological sections were prepared with hematoxylin-eosin staining. Liver tissue of different groups was examined qualitatively and based on the severity of damage.The results showed that significant changes in tissue damage were observed in the grooves infected with bacteria compared to the control. But these changes in the group treated with the postbiotic mixture, including the number of inflammatory cells, vacuolation, necrosis, hemorrhage, changes in the sinusoidal space, and liver lobule, were shown to be significant. Based on the results obtained, the postbiotic mixture (*Lactobacillus plantarum, Lactobacillus paracasei, and Lactobacillus brevis)* showed an ameliorating effect on induced lesions in the liver tissue of rat infected with the bacteria. Therefore, it can probably be used as a protective and therapeutic strategy.

Keywords: postbiotic, liver, *Salmonella typhimurium*, rat

*zkeshtmand2001@gmail.com

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]

EXTENDED ABSTRACT

Introduction*: Salmonella Typhimurium* is one of the common species of the genus *Salmonella* that causes various infections in humans and animals. One of the organs that this bacterium attacks after causing septicemia is the liver, which produces paratyphoid nodules in the liver, therefore humans have always been trying to prevent and treat salmonellosis .Given that the use of antibiotics also has its own limitations, the use of natural compounds or antioxidant properties has been considered. Today, with the increasing progress of the world and the greater awareness of people, most food products are moving in a direction that, in addition to nutritional value, also plays a role in a person's health. Functional compounds are among the recent advances of human society that play a special role in human health. Various factors such as the importance of prevention over treatment, high medical costs, consumers' desire to consume diverse foods with health-giving properties, and ultimately improving the quality of life are among the important reasons for the growing demand for useful compounds with therapeutic properties. In recent decades, much attention has been paid to bioactive compounds such as postbiotics. These compounds are closely related to the beneficial intestinal microbiota and promote host health, and by stimulating the activity and selective growth of beneficial gastrointestinal microbiota, they improve the health of consumers.Postbiotics are inactivated microbial cells (cell bodies), cell fractions (teichoic acid, peptidoglycan-derived mucopeptides, cell surface proteins, endo- and exopolysaccharides), as well as cell metabolites (short-chain fatty acids, enzymes, bacteriocins, and organic acids) that are secreted when microbial cells are alive or released into the host intestinal environment after their decomposition, and if ingested in sufficient amounts, they exert health-promoting effects on the host. The aim of this study was to investigate the protective effect of a postbiotic mixture (*Lactobacillus plantarum, Lactobacillus paracasei, and Lactobacillus brevis*) on the liver tissue of rats infected with *Salmonella typhimurium.*

Material and methods: In this experimental study, 21 male Wistar rats were obtained from the Pasteur Institute of Iran and kept in the animal house for one week before the start of the experiments, in order to adapt to the laboratory environment under standard conditions, a period of 12 hours of light and 12 hours of darkness (natural cycle) at a temperature of 23 ± 2 °C, with adequate access to water and appropriate food. All experiments were conducted in accordance with the ethical guidelines (ethics code IR.IAU.CTB.REC.1402.042) approved by the Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch.The animals were divided into three groups including control group, infected with *Salmonella Typhimurium* CFU/ml (10^8) and infected model + postbiotic recipient (10^9 CFU/ml). Infection induction and postbiotic administration were performed by gavage. After the treatment period and dissection of the rats, liver tissue was extracted for histological examination in different groups. Then, different stages of liver tissue preparation, preparation of 5-micron thick sections were performed and histopathological sections were prepared with hematoxylin-eosin staining. The samples were examined qualitatively and based on the severity of the injury. The condition without injury was considered as -, mild injury +, moderate injury ++, and severe injury.+++ .

Results: According to the results, significant changes in tissue damage were observed in the bacterially infected grooves compared to the control group. However, this relative improvement was significant in the postbiotic mixture treated group, including the number of inflammatory cells, vacuolation, necrosis, hemorrhage, changes in sinusoidal space, and liver lobule.

Discussion: In bacterial infections, due to the excessive production and accumulation of free oxygen species (ROS), the destruction of biological molecules such as DNA, lipids, and proteins, body tissues undergo oxidative stress, and the enzymatic and non-enzymatic defense systems that trap free radicals are weakened, and lipid oxidation increases in host cells, which ultimately causes tissue destruction and later organ failure.Based on the results of studies on the ability of postbiotics to maintain host health, the presence of compounds with strong antioxidant properties against pathogenic agents can be achieved through the ability to enhance adhesion and colonization, prevent invasion of other tissues, inhibit biofilm formation, and also in the intestinal environment, postbiotics derived from lactic acid bacteria communicate with epithelial cells and the immune system, stimulate and activate innate immunity, and subsequently launch a defensive response in the host.Simultaneously with the

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]

consumption of postbiotic products, these compounds interact with the host eukaryotic cells and, by modulating the function of the immune system and activating the relevant signaling pathways, they establish homeostasis in the digestive tract. Finally, by providing a fertile substrate, they create conditions for the growth of probiotic cells and play a role in the treatment and prevention of many diseases, including bacterial infectious agents. Based on the results obtained, the postbiotic mixture *(Lactobacillus plantarum, Lactobacillus paracasei, and Lactobacillus brevis)* showed an ameliorating effect on induced damage in the liver tissue of rats infected with *Salmonella typhimurium*. Therefore, it can probably be used as a protective and therapeutic strategy.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]

اثر حفاظتی مخلوط پست بیوتیک لاکتیکی بر بافت کبد آلوده به باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* در موش های صحرایی نر نژاد ویستار

زهرا کشتمند*[۱]، لیلا راد[۱]

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۱۹

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی تاثیر حفاظتی مخلوط پست بیوتیک *(لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس پاراکازئی و لاکتوباسیلوس برویس)* بر بافت کبدموش‌های صحرایی آلوده به باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* می‌باشد. در این مطالعه تجربی ۲۱ موش صحرایی نر نژاد ویستار، در سه گروه شامل گروه کنترل ،آلوده به سالمونلا تیفی موریوم ($10^8 CFU/ml$) و مدل آلوده + دریافت کننده پست بیوتیک ($10^9 CFU/ml$) تقسیم بندی شدند. القا آلودگی و دریافت پست بیوتیک روش گاواژ انجام شد.بعد از دوره تیمار و تشریح موش های صحرایی ، بافت کبد جهت بررسی هیستولوژی در گروه‌های مختلف استخراج شد. سپس مراحل مختلف آماده سازی بافت انجام و مقاطع هیستوپاتولوژیک با رنگ -آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین تهیه گردید .بافت کبد گروههای مختلف به صورت کیفی و براساس شدت آسیب مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل، در گرووهای آلوده با باکتری تغییرات معنادار آسیب بافتی در مقایسه با کنترل قابل مشاهده است. اما این تغییرات در گروه تیمار شده با مخلوط پست‌بیوتیک از جمله، تعداد سلول‌های التهابی، واکوئله شدن، نکروزی شدن، خونریزی، تغییر در فضای سینوزوئیدی، لوبول کبدی معنا دار نشان داده شد. براساس نتایج به دست‌آمده مخلوط پست‌بیوتیک *(لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس پاراکازئی و لاکتوباسیلوس برویس)* اثر بهبوددهندگی بر آسیب‌های القایی در بافت کبد موش‌های صحرایی آلوده به باکتری را نشان داد. بنابراین احتمالا بتواند به عنوان یک راهبرد حفاظتی و درمانی استفاده شود.

کلید واژه ها : پست بیوتیک، کبد، *سالمونلا تیفی موریوم*، موش صحرایی

* zkeshtmand2001@gmail.com

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]

مقدمه

در میان باکتری‌های منتقل‌شده از طریق غذا، سالمونلا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است که طیف وسیعی از بیماری‌ها از ورم معده‌ی خفیف خود محدود شونده تا تب حصبه سیستمیک کشنده را باعث می‌شود(۱).آلودگی‌های انسانی معمولاً از طریق مصرف غذاهای خام مانند گوشت، تخم‌مرغ و غذاهای روزانه حاصل می‌شود. بنابراین منبع اصلی تمامی این بیماری‌ها در انسان، ناشی از آلودگی مواد غذایی و حیوانی است (۲).این باکتری از مهم ترین عوامل بیماری‌زای روده‌ای در حیوانات و انسان‌ها محسوب می‌شوند که از طریق آب و غذای آلوده انتقال می‌یابند و به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی در سراسر دنیا مطرح هستند(۳).باکتری سالمونلا با عبور از معده به روده ، به دیواره متصل و با کمک برخی پروتئین‌های ویژه روده ای بعد ازنفوذ به روده، وارد طحال و کبد شده و در آن جا تکثیر می‌یابد (۴).

سالمونلاها از طریق جریان خون به کبد منتقل می‌شود و در کیسه صفرا کلونیزه و همچنین با ایجاد سپتی‌سمی خصوصاً در حیوانات جوان تر به ارگان‌های مختلف منجمله کبد راه یافته و ضایعاتی نیز تولید می‌نماید. اگر چه این ضایعات پاتوگونومونیک نیستند ولی به هرحال در عفونت سالمونلایی در کبد دیده می‌شوند که عبارتند از نکروزهای کانونی کوچک که در حقیقت همان ندول های پاراتیفوئیدی اند . به دنبال آن تجمع سلولهای رتیکولواندوتلیال که شامل هیستوسیت‌ها و ماکروفاژها می‌باشد که در ارتباط با نکروز کبدی و یا مستقل از نکروز کبدی است رخ می‌دهد. سلول-های کوپفر کبدی کاملاً برجسته و مشخص شده و سینوزئیدهای کبدی تعداد زیادی لوکوسیت را در بر می-گیرند. به علاوه هپاتیت حاد و التهاب کیسه صفرا از عوارض دیگر باکتری هستند(۵).

پدیده نکروز کبدی که به نوعی تغییر در نفوذپذیری غشاء سلول می‌انجامد باعث نشت ترکیبات درون سلولی به مایع برون سلولی می‌شود و در نتیجه آنزیم های سیتوپلاسمی محلول مانند AST, ALT به راحتی از سلول خارج می‌شوند و به عنوان شاخص‌های تشخیصی معمول برای افزایش نفوذ پذیری سلول های کبدی به شمار می‌روند. فعالیت سرمی آنزیم‌های نشتی در خلال چند ساعت بعد از آسیب کبدی افزایش می‌یابد(۶).

در سال‌های اخیر باکتری‌ها به درمان‌های آنتی بیوتیکی بسیار مقاوم شده اند. از سویی مصرف بی رویه آنتی بیوتیک‌ها تعادل میکروبیوم روده ای را برهم زده که تحت عنوان دیس بیوزیس از آن یاد می‌کنند که احتلال در توازن میکروبیوتای روده بوده و موجب تسلط میکروب‌های بیماریزا در روده می‌شود(۷).

برای غلبه بر عدم تعادل میکروبیوتای روده ای استفاده از ترکیبات طبیعی مانند پروبیوتیک، سین بیوتیک و پست بیوتیک نقش کمک کننده ای دارد، از این رو امروزه پژوهشگران با توجه به عوارض جانبی مصرف طولانی مدت آنتی بیوتیک‌ها و از سویی مکانیسم عملکرد برخی از میکروارگانیسم و متابولیت‌های آنها به دنبال شناسایی و معرفی ترکیبات مفید در ارتقا سلامت با نقش پیشگیری و درمان هستند(۸،۹).

بخش عمده‌ای از اثرات تعدیل کنندگی سیستم ایمنی توسط پروبیوتیک‌ها مربوط به ترکیبات پست بیوتیک مشتق شده از آنها است. در محیط روده، پست بیوتیک‌های مشتق شده از باکتری‌های اسید لاکتیک با سلول‌های اپی‌تلیال و سیستم ایمنی ارتباط برقرار کرده و موجب تحریک و فعال سازی ایمنی ذاتی و متعاقباً راه اندازی پاسخ دفاعی آن در میزبان می‌شوند .در واقع این ترکیبات، یکی از آن مفاهیم و اصطلاحاتی است که مفهوم بی نیازی از زنده مانی باکتری-های پروبیوتیک را توضیح می‌دهد، طبق شواهد حاصل از مطالعات بالینی، همواره یک ارتباط مستقیم و منسجم بین میکروبیوتای مفید روده(پروبیوتیک‌ها)،عملکرد بهینه سیستم

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]

ایمنی و برقراری وضعیت هومئوستازیس در میزبان وجود دارد(۱۰).

پست بیوتیک‌ها با توجه به ساختار شیمیایی مشخص، غیرسمی و ایمن بودن، ماندگاری و اینکه حاوی مولکول‌های مختلف دخیل در سیگنالینگ هستند، دارای فعالیت‌های زیستی ضدالتهابی، تعدیل سیستم ایمنی، پیشگیری ازچاقی،تعدیل فشارخون، کاهندگی کلسترول سرم، متوقف‌ساختن تکثیر سلولی، آنتی اکسیدانی و ضدسرطانی بوده و نقش اساسی و بالینی پروبیوتیک‌ها را ایفا می‌کند(۱۱).

در نتیجه با وجود اثربخش بودن پروبیوتیک‌ها، پست بیوتیک‌های حاصل از آن‌ها با کاهش خطر ابتلا به باکتریمی، ایجاد عفونت ویا افزایش پاسخ التهابی که برای برخی از مصرف‌کنندگان با سیستم ایمنی نامتعادل یا ضعیف نشان داده شده و می‌توانند در قالب سیستم دارویی یا غذاهای فراسودمند برای اهداف پیشگیری و درمانی مورد استفاده قرار بگیرند (۱۲). توانایی پست‌بیوتیک‌ها در حفظ سلامتی میزبان در برابر عوامل بیماری زا می تواند از طریق مهار چسبندگی و کلونیزاسیون، پیشگیری از تهاجم به سایر بافت‌ها، مهار تشکیل بیوفیلم و همچنین بهبود عملکرد سیستم ایمنی درایجاد پاسخ‌های مناسب ایجاد گردد(۱۳).

نظر به اهمیت پست بیوتیک‌ها به عنوان کاهش دهنده التهاب و تقویت‌کننده سیستم ایمنی، تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با بررسی تاثیر مخلوط پست بیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس پاراکازئی و لاکتوباسیلوس برویس)* بر بافت کبد موش‌های صحرایی نر آلوده به *سالمونلا تیفی‌موریوم* صورت نگرفته، لذا هدف از طراحی تحقیق حاضر، بررسی مخلوط پست بیوتیک *(لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس پاراکازئی و لاکتوباسیلوس برویس)* بر بافت کبد موش‌های صحرایی نر تحت مواجهه با *سالمونلا تیفی موریوم* است.

روش‌ها

در این تحقیق ۲۱ موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از انستیتو پاستور ایران تهیه و به مدت یک هفته پیش از شروع آزمایشات، به‌منظور سازش با محیط آزمایشگاه به حیوان خانه‌ی دانشکده‌ی علوم پایه‌ی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی منتقل شدند. نگهداری از حیوانات در شرایط استاندارد، دوره‌ی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (سیکل طبیعی) در دمای ۲۳±۲سانتی‌گراد، درون قفس‌های پلکسی گلاس مخصوص با دسترسی کافی به آب و غذای مناسب، صورت گرفت. تمامی آزمایش‌ها، منطبق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام و درکلیه روش‌ها اصول‌اخلاقی(شناسه اخلاق IR.IAU.CTB.REC.1402.042)مورد تائید دانشکده‌ی علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی رعایت شد.

تهیه مخلوط پست بیوتیک

مخلوط پست‌بیوتیک شامل متابولیت باکتری‌های*(لاکتوباسیلوس پلانتاروم*[1]*، لاکتوباسیلوس پاراکازئی*[2] *و لاکتوباسیلوس برویس*[3]*)* به‌صورت پودری با 10^{10} logاز شرکت تک‌ژن زیست تهیه شد.

تهیه *سالمونلا تیفی موریوم*

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

روش کشت باکتری

سوش سالمونلا تیفی موریوم درمحیط کشت مک کانکی آگار (MacConkey agar) کشت داده شد و پس از ۲۴ساعت انتقال به انکوباتور با دمای ۳۷درجه سانتیگراد کلونی‌ها باکتریایی از نظر میکروسکوپی و ماکروسکوپی و

[1] *Lactobacillus plantarum*
[2] *Lactobacillus paracasei*
[3] *Lactobacillus brevis*

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]

بیوشیمیایی بررسی شدند. جهت انجام آزمایش‌های تاییدی سالمونلا از گالری ایمویک (IMVIC) استفاده شد(۱۴).

روش آزمایش:

موش‌ها در سه گروه ۷تای تقسیم‌بندی شدند:

موش‌ها 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* (cfu/ml $۱۰^{۸}$)، (۱۵).

۳)گروه آلوده ،که مخلوط پست بیوتیک (cfu/ml $۱۰^{۹}$) را دریافت کردند(۱۶).

آلوده کرده موش ها به باکتری به روش گاواژ انجام شد. برای تهیه غلظت پست بیوتیک، یک گرم پست بیوتیک در نه سی‌سی آب مقطر حل گردید و به مدت سی وپنج روز در یک ساعت مشخص (هشت صبح) به هرموش از این محلول، یک سی‌سی گاواژ شد،(۱۷). همچنین آلوده کرده موش ها به باکتری نیز به روش گاواژ انجام شد(۱۵). جهت فراهم کردن شرایط مشابه هر سه گروه ، به گروه اول و دوم نیز مقداری آب به صورت روزانه به روش گاواژ داده شد.

عد از ۳۵ روز، موش‌ها با کتامین زایلازین بیهوش و بعد از تشریح، بافت کبد جدا شده و در سرم فیزیولوژی شستشو داده شد. جهت مطالعات آسیب‌شناسی کبد در داخل فرمالین بافر ۱۰ درصد قرارداده شد. بعد از تثبیت بافت، مراحل مختلف آماده سازی(آبگیری، پاکسازی ،نفوذ در بافت ،درجانشانی و تهیه بلوک) انجام شد، جهت بررسی بافت و تهیه لام‌ها،برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و مقاطع هیستوپاتولوژیک با رنگ -آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین تهیه گردید (۱۷).

جهت بررسی و مشاهده لام‌ها از میکروسکوپ نوری ژاپنی الیمپوس استفاده شد و نمونه‌ها به صورت کیفی و براساس شدت آسیب مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات پارامترهای مورد بررسی در بافت کبد نمره دهی شد. برای حالت بدون آسیب علامت–، آسیب خفیف+، آسیب متوسط ++، آسیب شدید +++ در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی:

پروپوزال این مطالعه، توسط کمیته‌اخلاق دانشگاه تهران-مرکزی موردتایید قرارگرفته‌است(کد اخلاق IR.IAU.CTB.REC.1400.042).

یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسی بافت کبد در گروه‌های مختلف آزمایش در جدول یک و شکل ۱تا۳ نشان داده شده است. در گروه کنترل همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد بافت دارای مختصات منظم بوده و تغییر خاصی در آن وجود ندارد. سلول‌های کبدی یا هپاتوسیت‌هادارای سیتوپلاسم اسیدیوفیل و یکنواخت همراه با هسته گرد و یوکوروماتین دیده می‌شوند. فضای بین ستون‌های کبدی که فضای سینوزوئیدی نامیده می شود در تمامی نواحی به طور یکنواخت و با یک گستردگی دیده می‌شود و این فضا فاقد هرگونه ترشح خاصی می باشد. در این فضا ماکروفاژهای کبدی که سلول کوپفر نامیده می‌شوند و جز سیستم فاگوسیتیک تک هسته ای به حساب می آیند به تعداد و شکل مناسب پراکنده شده اند. همچنین مشخص می باشد و ورید مرکز لوبولی نیز دارای آندوتلیوم و محدوده مشخص است.

در نمونه‌های آلوده به باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* حالت طبیعی بافت از بین رفته است، وریدهای مرکز لوبولی گسترده و یا بسیار کوچک شده به نظر می‌رسند و از لحاظ اندازه با یکدیگر همخوانی ندارند. فضای سینوزوئیدی اندازه مناسبی نداشته و در این فضا تجمعات خونی و غیر خونی دیده می شود، هپاتوسیت‌ها دارای سیتوپلاسم کمرنگ بوده و حفرات واکوئولی کاملا در آنها مشهود است. تعداد سلول‌های کوپفر نیز بیشتر از حالت معمول است و بر تعداد سلول‌های التهابی نیز افزوده شده است(شکل ۲).

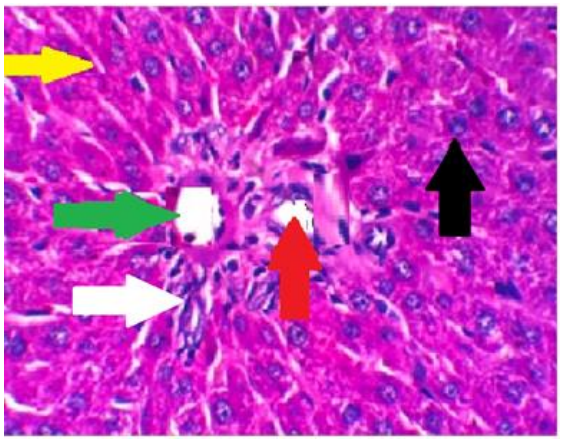
در نمونه‌های بافت شناسی گروه آلوده تیمار شده با مخلوط پست بیوتیک یکپارچگی و انسجام وجود دارد ولی وریدهای مرکز لوبولی متسع و غیر هم اندازه هستند. فضاهای سینوزوئیدی تغییرات و اتساع اندک همراه با تجمعات خونی

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]

حداقلی دارند. هپاتوسیت‌ها نکروز را نشان می‌دهند.فضای سینوزوئیدی در مقایسه با گروه آلوده اتساع شدید ندارد و میزان پرخونی در آن کاهش یافته ولی التهاب نیز کاهش یافته است.هپاتوسیت‌ها اغلب مشخصات طبیعی دارند و ستون‌های بی‌منظم و نا پیوسته ای نیزکمتر مشاهده می‌شود .هپاتوسیت‌ها نیز اغلب درجات کمتری از تغییرات واکوئولی همراه با اندازه متفاوت را در مقایسه با گروه دریافت کننده باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* نشان می‌دهند(شکل ۳).

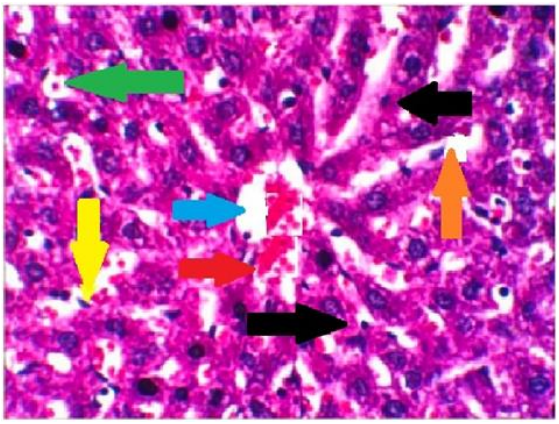
جدول ۱- مقایسه درجه آسیب در سلول‌های بافت کبدی در گروه‌های مختلف آزمایش. بدون آسیب –، آسیب خفیف+، آسیب متوسط ++، آسیب شدید +++

پارامترها	گروه کنترل	گروه آلوده به باکتری سالمونلا تیفی(10^8 cfu/ml)	گروه آلوده+ مخلوط پست بیوتیک (10^9 cfu/ml)
تغییرات مورفولوژیک	-	+++	+
سلول واکویله شده	-	+++	+
سلول‌های التهابی	-	+++	+
سلول نکروزی	-	+++	+
نظم سلولی	-	+++	+
طناب سلولی	-	+++	+
اتساع وریدها	-	+++	+
سلول‌های تک‌هسته‌ای	-	+++	+
وریدهای پرخون	-	+++	+
سلول‌های هیدروپاتی	-	+++	+

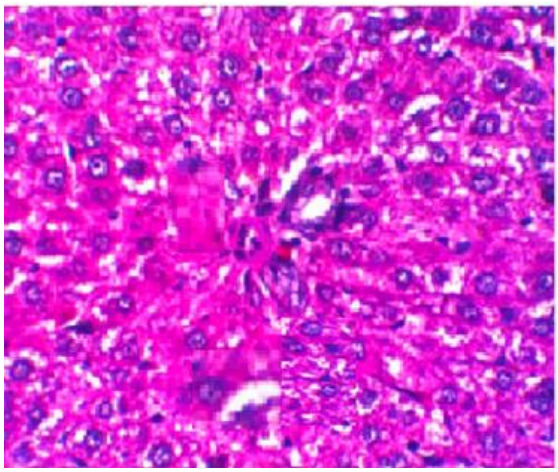


شکل۱ .بافت کبد در گروه کنترل با بزگنمایی ۴۰۰ و رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین. هپاتوسیت (پیکان مشکی) در ردیف‌های شکل معمولی ظاهر می‌شود .سینوس‌های کبدی (پیکان زرد رنگ)، مجرای پورتال طبیعی کبد (پیکان قرمز) با ورید باب طبیعی (پیکان سفید) و مجرای صفراوی (پیکان سبز رنگ) از هم جدا شده‌اند.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]



شکل ۲ . بافت کبد در گروه آلوده به باکتری *سالمونلا تیفی موریوم*. (بزگنمایی ۴۰۰ و رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین).دژنراسیون و هپاتوسیت نکروزه (پیکان سیاه) در اطراف وریدهای مرکزی متراکم (پیکان آبی) و تجمع سلول‌های التهابی (پیکان زرد) و سینوس های متورم (پیکان نارنجی)، واکوئله شدن (پیکان سبز رنگ)، نکروز انعقادی خفیف برخی از سلول‌های کبدی (پیکان قرمز).



شکل ۳ . بافت کبد در گروه تیمار شده با مخلوط پست بیوتیک (بزگنمایی ۴۰۰ و رنگ آمیزی هماتوکسیلین –ائوزین).

صحرایی نر آلوده به باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* بررسی شد.

بحث

در سال‌های اخیر مطالعات متعددی روی جنبه‌های مختلف درمانی پروبیوتیک‌ها و محصولات متابولیک آنها یعنی پست بیوتیک‌ها انجام شده است. استفاده از منابع طبیعی جهت بهبود و تخفیف آسیب‌های مختلف آلودگی با باکتری‌ها، داروهای شیمیایی به موضوع مورد علاقه بسیاری از پژوهشگران تبدیل شده است(۱۸). در این مطالعه تأثیر مخلوط پست‌بیوتیک بر آسیب‌های بافت کبد موش‌های

تحقیقات نشان داده است که، در عفونت‌های باکتریایی بافت‌های بدن دچار استرس اکسداتیو شده و سیستم‌های تدافعی آنزیماتیک و غیر آنزیماتیک به دام اندازنده رادیکال آزاد دچار تضعیف و در سلول‌ها میزبان اکسیداسیون لیپیدی افزایش می‌یابد(۱۹).ایجاد و تجمع بیش از حد گونه‌های اکسیژن آزاد(ROS) مانند پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و رادیکال‌های آنیون سوپراکسید یا کاهش اثربخشی سیستم آنتی‌اکسیدانی ممکن است DNA، لیپیدها و پروتئین‌ها را تخریب کرده و منجر به تخریب بافت و بعداً

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]

نارسایی اندام‌ها شده که بر همین اساس آسیب‌های متعدد در اندام‌های مختلف بدن از جمله کبد و کلیه ایجاد می‌شود(۲۰،۲۱)،که یک عامل خطرساز سلامت در حال ظهور است و در بسیاری از بیماری‌های انسان و حیوانات نقش دارد (۲۲).

تحقیقات نشان داده است که ،تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی و صدمات اکسیداتیو با تخریب کبدی القاشده توسط باکتری ارتباط دارد. *سالمونلا تیفی موریوم* باعث کاهش محتوی گلوتاتیون در هپاتوسیت‌های جداشده می‌گردد. صدمه کبدی ایجاد شده توسط این باکتری شامل مرگ سلولی و نکروز می‌باشد. محققین عواملی هم چون افزایش تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر و به دنبال آن استرس اکسیداتیو ناشی از تولید ROS را در القا اثرات سمی عفونت باکتری در بافت‌های مختلف را دخیل می‌دانند(۲۲،۲۳).

مطالعات نشان داده است که تغییر در تعداد و اندازه هسته‌های هپاتوسیت می‌تواند به دلیل افزایش عفونت و افزایش فعالیت‌های متابولیکی هسته با منشأ پاتولوژیکی باشد.همچنین، تجمع باکتری در کبد سبب نکروز در هپاتوسیت‌ها شده که منجر به کاهش انتقال خون و مواد غذایی در کبد می‌شود (۲۳،۲۴).

در این تحقیق نتایج حاصل از بررسی بافت کبد نشان داد که در گروه تیمار شده با مخلوط پست بیوتیک، بهبودی نسبی در آسیب‌های ایجاد شده در بافت کبد مشاهده شد.

حسینی و همکاران (۲۰۲۳) با بررسی اثر مخلوط پروبیوتیک بر بافت کبد موش‌های آلوده به باکتری اشیرشیاکلی گزارش دادن که عفونت باکتریایی سبب القا تغییرات بافتی بصورت سست شدن بافت کبدی، تغییر شکل هسته و واکوئلیزه شدن سیتوپلاسم سلول کبدی مشاهده می‌شود(۲۵).

گوانت[1] و همکاران در سال ۲۰۲۴ گزارش داده اند که پست‌بیوتیک‌های مشتق‌شده از لاکتی‌پلانتی‌باسیلوس پلانتاروم، عفونت سالمونلا را با مهار بیماری‌زایی باکتری‌ها و تعدیل اتوفاژی و التهاب NLRP3 در موش‌ها به طور قابل‌توجهی کاهش می‌دهند(۲۶).

در مطالعه هیو[2] و همکاران در سال ۲۰۲۳ در مدل برونزی پست‌بیوتیک‌های مشتق‌شده از لاکتوباسیلوس پلانتارم در مجاورت با سلول‌های اپی‌تلیال قرار گرفته و به طور موثری توانایی چسبندگی و تهاجمی سالمونلا را کاهش داده بودند (۲۷).

دفاع آنزیمی توسط آنزیم‌های آنتی اکسیدان برای محافظت از باکتری‌ها در برابر استرس اکسیداتیو بسیار مهم است. وجود فعالیت آنتی اکسیدانی باکتری‌های اسید لاکتیک می‌تواند به دلیل تولید اگزوپلی ساکاریدها، اسید لیپوتیکوئیک و پروتئین‌های سطح سلولی باشد (۲۸).

در شرایط عادی، سلول‌ها توسط آنتی اکسیدان‌ها و آنزیم‌های درون سلولی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) محافظت می‌شوند که با حذف پراکسیدها و سوپراکسیدها از تشکیل ترکیبات واکنش پذیرتر جلوگیری می‌کند(۲۹). نتایج تحقیقات نشان داده است که پست بیوتیک‌ها با توجه به پتانسیل آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را از خود نشان می دهند(۳۰).

در محیط روده، پست بیوتیک‌های مشتق شده از باکتری‌های اسید لاکتیک با سلول‌های اپی‌تلیال و سیستم ایمنی ارتباط برقرار کرده و موجب تحریک و فعال سازی ایمنی ذاتی و متعاقباً راه اندازی پاسخ دفاعی در میزبان می‌شوند(۳۱).

پست بیوتیک‌ها غنی از اسیدهای آلی مانند اسید لاکتیک و اسید استیک هستند، اسیدها به دلیل وجود گروه‌های هیدروکسیل که فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهند، اهداکنندگان بزرگ الکترون هستند، برخی از این متابولیت‌های محلول (پست‌بیوتیک‌ها) پس از مواجهه با

[1] *Guant*
[2] *Hu*

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]

روش‌های غیرفعال‌سازی فیزیکی و شیمیایی، تجزیه شده و در محیط روده میزبان آزاد می‌شوند و با توجه به ساختار شیمیایی منحصر به فرد خود با سلول‌های اپیتلیال و سیستم ایمنی میزبان وارد واکنش شده و موجب ایجاد اثرات فیزیولوژیک خاص با اصلاح فرآیندهای سلولی و مسیرهای متابولیکی در میزبان می‌شوند(۳۲). بنابراین احتمالا پست-بیوتیک‌های مشتق شده از باکتری‌های اسیدلاکتیک و بیفیدوباکتریوم را می‌توان به عنوان عامل ضدمیکروبی ایمن که موجب فعالسازی ایمنی ذاتی و متعاقباً راه اندازی پاسخ دفاعی آنی در میزبان می‌شوند(۳۳) در طیف وسیعی از محصولات دارویی جهت اهداف پیشگیری یا بهبود روش‌های درمانی معرفی کرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که احتمالاً درمان با مخلوط پست بیوتیک(*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* و *لاکتوباسیلوس برویس*)دارای اثرات محافظتی بر آسیب های کبدی القا شده توسط باکتری سالمونلا تیفی موریوم می‌باشد. پست‌بیوتیک‌ها احتمالاً با مهار برهم‌کنش‌های شیمیایی رادیکال‌های آزاد ناشی از عفونت که آغاز کننده استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپید و تغییرات مولکولی هستند و همچنین با سرکوب روند التهاب بافتی در کبد، اثر حفاظت کنندگی خود در کبد را اعمال می‌کند. این ترکیبات، با کاهش خطر ابتلا به باکتریمی، ایجاد عفونت و یا افزایش پاسخ التهابی که برای برخی از مصرف‌کنندگان با سیستم ایمنی نامتعادل یا ضعیف نشان داده شده عمل می کنند ، از این رو به عنوان نسل جدیدپروبیوتیک‌ها و جایگزین ایمن برای آن‌ها شناخته می‌شوند و می‌توانند در قالب سیستم دارویی یا غذاهای فراسودمند برای اهداف پیشگیری و درمانی مورد استفاده قرار بگیرند.با توجه به نتایج پژوهش‌ها احتمالا بتوان پست بیوتیک‌ها را به عنوان راهبرد نوین در طیف وسیعی از محصولات دارویی جهت اهداف پیشگیری یا بهبود روش های درمانی به کار گرفت.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان این مقاله از همکاران مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی و شرکت تک ژن کمال تشکر را دارند.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]

منابع

1.Azimi T, Nasrollahian S, Sabour S, Hadi N, Azimi L, Fallah F, Pourmand MR. Detection of Yersinia enterocolitica, Shigella spp. and Salmonella spp. in Rattus norvegicus captured from Tehran, Iran. Future Microbiology. 2024;19(5):377-384.

2.Mohammed DJ, Al-Ubaidi SI. Determining the Levels of Few Inflammatory Cytokines in Lab Animals Exposed to Various Concentrations of Salmonella typhi Lipopolysaccharides. Central Asian Journal of Theoretical and Applied Science. 2024;5(4):349-355.

3.Ngamga FH, Fowa AB, Teboukeu GB, Mouokeu RS, Womeni HM. Effectiveness of boiled Chrysicthys nigrodigitatus against rats-induced Salmonella Typhi infection. Clinical Nutrition Open Science. 2021;37:25-34.

4.Iftikhar K, Siddique F, Ameer K, Arshad M, Kharal S, Mohamed Ahmed IA, Khalid S. In vivo anti-Salmonella properties of aqueous extract of prickly pear (Opuntia ficus indica) cladode, hepatological and toxicological evaluation. Food Science & Nutrition. 2024;12(7):4761-4771.

5. Rasheed KN, Ibrahim YW, Atiyea QM. Histological and Physiological Evaluation of Salmonella Spp. Pathogenicity Experimentally Dosed in Male Albino Mice. South Asian Res J Bio Appl Biosci. 2024;6(4):120-131.

6.Mazkour S, Shekarforoush SS, Basiri S, Namazi F, Zarei-Kordshouli F. Protective effects of oral administration of mixed probiotic spores of Bacillus subtilis and Bacillus coagulans on gut microbiota changes and intestinal and liver damage of rats infected with Salmonella Typhimurium. Journal of Food Safety. 2022;42(4):e12981.

7.Zhao Q, Fan P, Gu Q, Mo X, Tan X, Zhou X, Yang F, Zhou X, Li Q. Early-life antibiotic exposure leads to gut microbial dysbiosis associated with neurodevelopment and neuroregeneration. bioRxiv. 2024;11:1477882.

8.Davarzani S, Sanjabi MR, Mojgani N, Mirdamadi S, Soltani M. Investigating the Antibacterial, Antioxidant, and Cholesterol-lowering Properties of Yogurt Fortified with Postbiotic of Lactobacillus acidophilus and Lactiplantibacillus plantarum in the Wistar Rat Model. Journal of Food Protection. 2024 1;87(12):100408.

9.Rezaie N, Aghamohammad S, Haj Agha Gholizadeh Khiavi E, Khatami S, Sohrabi A, Rohani M. The comparative anti-oxidant and anti-inflammatory efficacy of postbiotics and probiotics through Nrf-2 and NF-kB pathways in DSS-induced colitis model. Scientific Reports. 2024 21;14(1):11560.

10. Kango N, Nath S. Prebiotics, Probiotics and Postbiotics: The Changing Paradigm of Functional Foods. Journal of Dietary Supplements. 2024 1:1-27.

11. Izuddin WI, Humam AM, Loh TC, Foo HL, Samsudin AA. Dietary Postbiotic *Lactobacillus plantarum* Improves Serum and Ruminal Antioxidant Activity and Upregulates Hepatic Antioxidant Enzymes and Ruminal Barrier Function in Post-Weaning Lambs. *Antioxidants*. 2020; 9(3):250.

12.Morales-Ferré C, Azagra-Boronat I, Massot-Cladera M, Tims S, Knipping K, Garssen J, Knol J, Franch À, Castell M, Rodríguez-Lagunas MJ, Pérez-Cano FJ. Effects of a postbiotic and prebiotic mixture on suckling rats' microbiota and immunity. Nutrients. 2021 27;13(9):2975.

13.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.

14. Rad L, Keshtmand Z, Mirnurollahi SM. Effect of Probiotic Mixture on the Gut-Brain Axis and Immune Response in Male Wistar Rats Infected with Salmonella typhimurium. Journal of Veterinary Research.2024; 79(4): 249-263.

15. 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.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]

16. Dashtbanei 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.

17.Kohan A., Keshtmand Z. Ameliorating effects of *Lactobacillus* probiotics on cadmium-induced hepatotoxicity, inflammation, and oxidative stress in Wistar rats. Comparative Clinical Pathology.2024; 33: 653–664.

18.Rezaie N, Aghamohammad S, Khiavi EH, Khatami S, Sohrabi A, Rohani M. The preventive effects of native probiotic and postbiotic on inflammation and oxidative stress in DSS-induced colitis with normal diet: Which of these agents may offer greater advantages?. Heliyon. 2024;10(17):e37279.

19. Lu Y, Guo X, Xu F, Wang F, Wu H, Bai Y, Li W, Zhang G, Yuan J, Pang Q. Protective effects of puerarin on liver tissue in Salmonella-infected chicks: a proteomic analysis. Poultry Science. 2024;103(1):103281.

20.Liu J, Gu Z, Zhang H, Zhao J, Chen W. Preventive effects of Lactobacillus plantarum ST-III against Salmonella infection. Lwt. 2019;105:200-205.

21.Junaid M, Lu H, Li Y, Liu Y, Din AU, Qi Z, Xiong Y, Yan J. Novel Synergistic Probiotic Intervention: Transcriptomic and Metabolomic Analysis Reveals Ameliorative Effects on Immunity, Gut Barrier, and Metabolism of Mice during Salmonella typhimurium Infection. Genes. 2024;15(4):435.

22. Shen Y, Xiao Y, Zhang S, Wu S, Gao L, Shi S. Fe3O4 nanoparticles attenuated Salmonella infection in chicken liver through reactive oxygen and autophagy via PI3K/Akt/mTOR signaling. Frontiers in Physiology. 2020;10:1580.

23.Okafor SC, Ihedioha JI, Ezema WS, Onyema I, Ezema AS, Chah KF. Evaluation of the effects of experimental Salmonella gallinarum infection on the haematology and oxidative stress markers in young pullets. Animal Research International. 2024;21(1):5378-5388.

24.Margolis A, Liu L, Porwollik S, Till JK, Chu W, McClelland M, Vázquez-Torres A. Arginine metabolism powers Salmonella resistance to oxidative stress. Infection and Immunity. 2023;91(6):e00120-23.

25. Hosseini S, Keshtmand Z, Mlrnurollahi S M. Investigating the effect of probiotics mixture (Lactobacillus casei, Lactobacillus rhamnosus and Lactobacillus heloticus) on small intestine tissue infected with Escherichia coli bacteria in male rats. Journal of Applied Microbiology in Food Industry.2023; 9(2):79-87.

24. Lam HY, Wu WJ, Liang TR, Li HC, Chang KC, Peng SY. Salmonella typhimurium exacerbates injuries but resolves fibrosis in liver and spleen during Schistosoma mansoni infection. Journal of Microbiology, Immunology and Infection. 2023;56(3):477-489.

26. Guan L, Hu A, Ma S, Liu J, Yao X, Ye T, Han M, Yang C, Zhang R, Xiao X, Wu Y. Lactiplantibacillus plantarum postbiotic protects against Salmonella infection in broilers via modulating NLRP3 inflammasome and gut microbiota. Poultry Science. 2024;103(4):103483.

27. Hu A, Huang W, Shu X, Ma S, Yang C, Zhang R, Xiao X, Wu Y. Lactiplantibacillus plantarum postbiotics suppress Salmonella Infection via modulating bacterial pathogenicity, autophagy and inflammasome in mice. Animals. 2023;13(20):3215.

28.De LeBlanc AD, Castillo NA, Perdigon G. Anti-infective mechanisms induced by a probiotic Lactobacillus strain against Salmonella enterica serovar Typhimurium infection. International Journal of Food Microbiology. 2010;138(3):223-231.

Lin X, Xia Y, Wang G, Yang Y, Xiong Z, Lv F, Zhou W, Ai L. Lactic acid bacteria with antioxidant activities alleviating oxidized oil induced hepatic injury in mice. Frontiers in microbiology. 2018;9:2684

29.Tang W, Li C, He Z, Pan F, Pan S, Wang Y. Probiotic properties and cellular antioxidant activity of Lactobacillus plantarum MA2 isolated from Tibetan kefir grains. Probiotics and antimicrobial proteins. 2018;10:523-533.

30. Hosseinzadeh N, Asqardokht-Aliabadi A, Sarabi-Aghdam V, Hashemi N, Dogahi PR, Sarraf-Ov N, Homayouni-Rad A. Antioxidant Properties of Postbiotics: An Overview on the Analysis and Evaluation Methods. Probiotics and Antimicrobial Proteins. 2024 12:1-9.

31. Liu X, Ma Y, Guan K, Liu R, Mao K, Xu X, Li Q, Wang R. Intestinal barrier, immunity and gut

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]

microbiota-based protective effects of Lactococcus lactis HF08 and its postbiotic derivative on aging and aging colitis mice. Food Research International. 2024;197:115164.

32. Liu X, Ma Y, Guan K, Liu R, Mao K, Xu X, Li Q, Wang R. Intestinal barrier, immunity and gut microbiota-based protective effects of Lactococcus lactis HF08 and its postbiotic derivative on aging and aging colitis mice. Food Research International. 2024;197:115164.

33. D'ambrosio S, Dabous A, Sadiq S, Casillo A, Schiraldi C, Cassese E, Bedini E, Corsaro MM, Cimini D. Bifidobacterium animalis subsp. lactis HN019 live probiotics and postbiotics: production strategies and bioactivity evaluation for potential therapeutic properties. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2024;12:1379574.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-08-20]