

## مطالعه تاثیر مصرف شیر تخمیر شده با لاکتوباسیلوس فرماتوم بر الگوی لیپیدی رت های تغذیه شده با غذای پرچرب

مریم پرهام فر<sup>۱\*</sup>، موج خالقی<sup>۱</sup>، شهره فهیمی راد<sup>۲</sup>، مریم معظمی گودرزی<sup>۳</sup>

(۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران  
(۲) گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران  
(۳) گروه بیوتکنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی (اراک، اراک، ایران)

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۱۹

### چکیده

**مقدمه:** هایپرکلسترولمی از عوامل خطر برای بیماری های قلبی-عروقی تلقی میگردد. مطالعات متعدد نشان داده اند که برخی از سویه های لاکتوباسیلوس می توانند کلسترول را کاهش دهند. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات لاکتوباسیلوس فرماتوم جدا شده از ماست سنتی بر الگوی لیپیدی و وزن بدن رت های تغذیه شده با رژیم پرچرب است.

**مواد و روش ها:** چهل رت نر (۲۰±۲۰ گرمی) به طور تصادفی به ۴ گروه مساوی تقسیم شدند. رت های گروه اول، رژیم غذایی نرمال (N) و گروه دوم جیره غذایی نرمال همراه با شیر تخمیر یافته حاوی لاکتوباسیلوس فرماتوم مصرف کردند (N-L). گروه سوم غذای پرچرب به منظور ایجاد هایپرکلسترولمی دریافت نمودند (HF) و گروه چهارم رژیم پرچرب، با شیر تخمیر یافته حاوی لاکتوباسیلوس فرماتوم تغذیه شدند (HF-L). پس از ۸ هفته، وزن بدن و متابولیت های لیپیدی رت ها اندازه گیری گردید.

**یافته های پژوهش:** در رت های تغذیه شده با رژیم پرچرب همراه با شیر تخمیر یافته لاکتوباسیلوس فرماتوم (HF-L)، سطوح کلسترول تام، LDL-C و تری گلیسیرید سرمی به طور معنی داری کمتر و سطح HDL-C سرمی به طور معنی داری بیشتر از گروه تغذیه شده با رژیم پرچرب بدون مکمل پروبیوتیک (HF) بود (P<0.05). البته میانگین کلسترول، LDL-C، تری گلیسیرید و HDL-C سرمی در میان گروه های N (N-L) اختلاف قابل توجهی نداشت. هم چنین، افزایش وزن بدن در گروه HF به طور معنی داری بیشتر از گروه HF-L بود (P<0.01).

**بحث و نتیجه گیری:** این مطالعه پیشنهاد می دهد که مصرف شیر تخمیر یافته با لاکتوباسیلوس فرماتوم، الگوی لیپیدی سرم را از طریق کاهش سطوح کلسترول، تری گلیسیرید، LDL-C و افزایش میزان HDL-C در رت بهبود می بخشد و در پیشگیری از چاقی ناشی از رژیم پرچرب نقش دارد.

**واژه های کلیدی:** لاکتوباسیلوس فرماتوم، بیماری قلبی-عروقی، غذای پرچرب، کلسترول سرمی

\*نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

Email: mary\_parhamfar@yahoo.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

## مقدمه

بیماری های قلبی-عروقی (CVD) یکی از علل عمده مرگ و میر در کشورهای صنعتی هستند (۱). در ایران مانند بسیاری از کشورها، بیماری عروق کرونری (CHD) مرتبط با هایپرلیپیدمی به عنوان علت اصلی مرگ در نظر گرفته می شوند (۲). سازمان بهداشت جهانی (WHO) پیش بینی کرده است که در سال ۲۰۲۰، ۴۰ درصد از همه مرگ و میرها به بیماری های قلبی-عروقی مربوط خواهد شد. اگر چه، کلسترول یک بخش اساسی و مهم برای بافت های بدن است، کلسترول بالا (هایپرکلسترولمی) از علل عمده بیماری عروق کرونری است (۳). نتایج حاصل از چندین مطالعه اپیدمیولوژیک و بالینی نشان می دهد که همبستگی مثبتی بین افزایش سطح کلسترول تام سرمی، به ویژه بخش LDL کلسترول (لیپوپروتئین با دانسیته پایین) و خطر ابتلا به پیدایش CHD وجود دارد. هم چنین گزارش شده که کلسترول بالا در وقوع ۴۵ درصد از حملات قلبی در غرب اروپا و ۳۵ درصد از حملات قلبی در مرکز و شرق اروپا در سال های ۲۰۰۳-۱۹۹۹ نقش داشته است (۴). هم چنین سازمان سلامت جهانی، پیش بینی کرده است که این بیماری ها، تا سال ۲۰۳۰ به عنوان عامل مهم مرگ و میر باقی خواهند ماند و تقریباً ۲۳/۶ میلیون از جمعیت جهان را متاثر می کنند (۵). خطر ابتلا به حمله قلبی در کسانی که هایپرکلسترولمی دارند، در مقایسه با کسانی که پروفایل لیپیدی خون طبیعی دارند، سه برابر بیشتر است. هم چنین هر ۱ درصد افزایش در غلظت کلسترول سرم، سبب ۳-۲ درصد افزایش در خطر ابتلا به CHD می شود (۶،۷).

استراتژی ایده آل برای کنترل این بیماری ها، پایین آوردن کلسترول از طریق ترکیبی از شیوه زندگی (شامل مدیریت رژیم غذایی، ورزش و کنترل وزن) و روش های دارو درمانی است (۸). داروهای کاهنده کلسترول، گران بوده و اثرات جانبی مانند آسیب عضلانی و تخریب ادراکی را به همراه دارند (۹). دسته دیگر عوامل دارویی، تجزیه کننده اسیدهای صفراوی، مهارگرهای جذب کلسترول، نیاسین و فیبرات هستند که بر کیفیت زندگی اثر نامطلوب اعمال می کنند. بنا بر

این درمان غیر دارویی به عنوان یک درمان حمایتی و روش جایگزین برای کاهش کلسترول در نظر گرفته می شود. مداخله مکمل های رژیم غذایی در حال حاضر به منظور کاهش عوامل خطر برای بیماری های قلبی-عروقی به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. به تازگی استفاده از پروبیوتیک ها به دلیل خواص طبیعی و بی خطر بودن و عوارض جانبی کمتر، بسیار مورد توجه می باشد (۱۰). پروبیوتیک ها، میکروارگانیسم های زنده ای هستند که وقتی در مقادیر کافی تجویز شوند، اثرات سلامت بخشی بر روی میزبان دارند (۱۱). مطالعات اخیر نشان داده اند که پروبیوتیک ها علاوه بر این که در بهبود سلامت روده، ایمنی و حفاظت در برابر میکروارگانیسم های مضر، اثرات ضد فشارخون، اثرات آنتی اکسیداتیو، پیشگیری از سرطان به خصوص سرطان روده بزرگ و مثانه، بهبود آرتروز، کاهش درماتیت و علائم آلرژیک پوستی به خصوص در نوزادان و زنان باردار، پیشگیری از اختلالات دستگاه گوارش مانند کولیت اولسراتیو و بیماری کرون و جلوگیری از پوکی استخوان نقش دارند، در پیشگیری از چاقی و کاهش کلسترول در مدل های حیوانی و انسانی نیز تاثیرگذار می باشند (۱۲). چندین مکانیسم برای فعالیت کاهندگی کلسترول توسط پروبیوتیک ها پیشنهاد شده است که عبارتند از: (۱) دکانژوگاسیون اسیدهای صفراوی از طریق تاثیر بر آنزیم هیدرولیز کننده نمک های صفراوی (BSH)، (۲) کاهش مقدار کلسترول در دسترس برای جذب، به واسطه برداشت و مصرف آن توسط فلور روده ای، (۳) اتصال کلسترول به دیواره سلولی باکتری های پروبیوتیک در روده و جذب کلسترول برای تثبیت غشای سلولی آن ها، (۴) تبدیل کلسترول به کوپروستانول توسط کلسترول ردوکتاز و دفع آن از طریق مدفوع، (۵) مهار سنتز کلسترول کبدی و تری گلیسیرید و یا مهار برگشت کلسترول از پلاسما به کبد توسط تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره مانند پروبیونات (۱۳).

اگر چه باکتری های پروبیوتیک را هم در فرآورده های لبنی و هم غیر لبنی می توان یافت، اما محصولات لبنی به عنوان ناقل ایده آل برای ارائه

باکتری های پروبیوتیک به دستگاه گوارش انسان ذکر شده اند. اولین گزارش از کاهش کلسترول سرم توسط میکروارگانیزم های پروبیوتیک (شیر تخمیر شده با سویه لاکتوباسیلوس) توسط شاپر و همکاران (۱۹۶۳) و مان و اسپوری (۱۹۷۴) ارائه گردید. گونه های باکتریایی پروبیوتیک در ارتباط با کاهش کلسترول عمدتاً به جنس لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم تعلق دارند (۱۴، ۱۵). البته دیگر باکتری های اسیدلاکتیک، مانند اتروکوکسی ها نیز قادر به تولید این اثرات می باشند (۱۶). در حال حاضر، آزمایش های حیوانی (در موش، رت، خوکچه هندی و خوک) و مطالعات انسانی متعددی گزارش کرده اند که میکروارگانیزم های پروبیوتیک دارای اثرات هیپولیپیدمیک با مهار سنتز کلسترول و کاهش لیپوپروتئین با چگالی کم، می باشند (۱۷، ۱۲).

کاهش کلسترول پروبیوتیک ها به شدت اختصاصی سویه بود و گونه های مختلف، فعالیت کاهش سطح کلسترول، متفاوت به نمایش می گذارند (۲۰-۱۸). بنا بر این، شناسایی سویه های پروبیوتیک مختلف با توانایی بالای کاهش سطح کلسترول، اهمیت بسیاری دارد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر مصرف شیر حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس فرماتوم بر افزایش وزن و پروفایل لیپیدی سرم (کلسترول تام، تری گلیسیرید، LDL-C و HDL-C) در رت می باشد.

### مواد و روش ها

این مطالعه از نوع تجربی آزمایشگاهی می باشد که از ۴۰ رت نر سفید نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰±۲۰۰ گرمی استفاده گردید. همه رت ها در دمای کنترل شده اتاق (۲±۲۰ درجه سانتی گراد) و رطوبت (۵±۵۰ درصد) قرار گرفتند و جهت عادت دادن به شرایط جدید به مدت یک هفته در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری و با غذای تجاری معمول تغذیه شدند.

رت های آزمایشی سالم به صورت تصادفی به ۴ گروه از ۱۰ حیوان تقسیم شدند که متوسط وزن اولیه بدن در میان همه گروه ها مشابه بود. این ۴ گروه با توجه به رژیم غذایی عبارت بودند از: گروه اول (N): رت با رژیم غذایی معمولی به عنوان کنترل،

گروه دوم (N-L): رت تغذیه شده با رژیم غذایی معمولی همراه با شیر تخمیریافته با لاکتوباسیلوس فرماتوم، گروه سوم (HF): رت با رژیم غذایی پر چرب، گروه چهارم (HF-L): رت تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب همراه با شیر تخمیریافته با لاکتوباسیلوس فرماتوم. گروه اول و سوم، شیر استریلیزه دریافت نمودند.

این رت ها به مدت یک هفته با رژیم غذایی نرمال تغذیه شدند. برای تهیه غذای مورد نیاز، غذای آماده حاوی ۱۲/۱ درصد خاکستر، ۳۰ درصد پروتئین، ۵ درصد چربی، ۱/۸ درصد کلسیم، ۱/۲ درصد فسفر و ۲ درصد فیبر به صورت پودر خریداری و به آن ۰/۰۲۵ درصد پودر مولتی ویتامین و ۱ درصد پودر آب پنیر اضافه و یکنواخت گردید. سپس مقداری آب ولرم به آن اضافه شد تا به صورت خمیری تبدیل شود و با استفاده از دستگاه پلت ساز دستی به صورت پلت تهیه و خشک گردید. پس از مدت یک هفته ۵ درصد چربی حیوانی (دمبه گوسفند) ذوب شده به عنوان چربی مکمل به ترکیب غذای قبلی اضافه و یکنواخت گردید و سایر مراحل تهیه غذا مشابه قبل صورت گرفت.

سویه به کار رفته در این پژوهش، لاکتوباسیلوس فرماتوم بود که از ماست سنتی از شهر کرمان جداسازی شده بود. باکتری جداسازی شده در محیط MRS برات کشت داده شد. این باکتری در دوز  $3 \times 10^9$  سیلی لیتر محیط MRS تلقیح و به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کشت داده شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر سویه لاکتوباسیلوس با ۹ میلی لیتر شیر استریلیزه (دمای ۲۰-۲۲ درجه سانتی گراد) ترکیب شد.

از روز هشتم به مدت ۲ ماه رت های گروه کنترل، غذای معمولی را همراه با آب حاوی ۲۵ درصد شیر استریلیزه دریافت کردند. گروه دوم (N-L) مشابه گروه کنترل، با غذای معمولی و آب حاوی ۲۵ درصد شیر حاوی باکتری لاکتوباسیلوس فرماتوم تغذیه شدند. گروه چهارم (HF-L) نیز در همین مدت غذای حاوی چربی مکمل و آب حاوی ۲۵ درصد شیر حاوی باکتری لاکتوباسیلوس فرماتوم دریافت نمودند. ولی شیر اضافه شده به آب مصرفی رت های گروه (HF) نیز استریلیزه

بود. غذا و آب مصرفی روزانه همه گروه ها تحت نظر بود و وزن بدن رت ها در هفته ثبت گردید.

برای اندازه گیری مقدار غذای مصرف شده توسط رت های همه گروه ها، هر روز مقدار غذای مساوی وزن شده و در اختیار رت های هر ۴ گروه قرار می گرفت و ۲۴ ساعت بعد، مقدار باقی مانده غذا مجدداً وزن می گردید و تفاوت مقدار غذای داده شده و مقدار غذای باقی مانده، بیانگر مقدار غذای مصرفی توسط حیوانات بود. بعد از ۸ هفته تیمار، رت ها را با استفاده از اثر، بیهوش نموده و خونگیری از قسمت گوشه چشم به نحوی که در سینوس اوربیتال ایجاد گسیختگی گردد با استفاده از لوله هماتوکریت انجام شد و نمونه های خون بلافاصله درون سانتریفوژ قرار گرفت و سرم آن جدا گردید. سپس با استفاده از کیت های استاندارد (شرکت زیست شیمی)، فاکتورهای سرمی از قبیل مقادیر کلسترول تام و تری گلیسیریدها، LDL-C و HDL-C اندازه گیری شد. علاوه بر موارد ذکر شده، میزان افزایش وزن در گروه های مورد بررسی در طول مدت نگهداری نیز تعیین گردید. هم چنین داده ها با روش آماری آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح  $\alpha=0.05$  مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### یافته های پژوهش

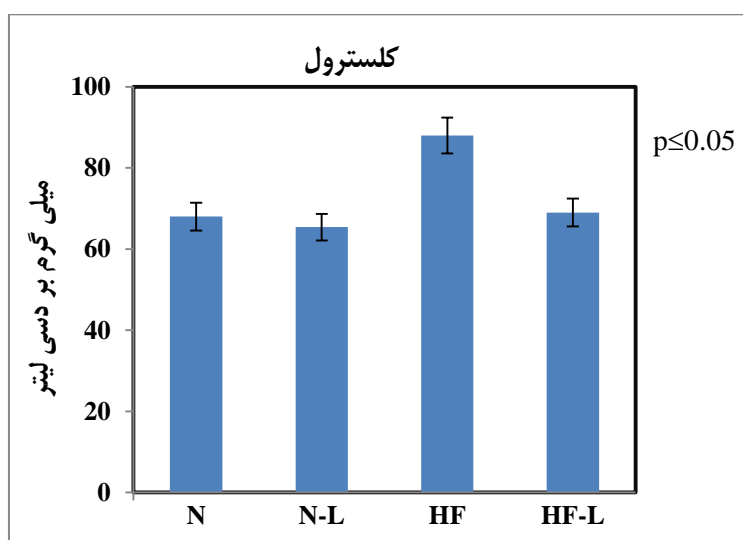
با توجه به این که یکی از اثرات و فواید باکتری های پروبیوتیک، کاهش متابولیت های لیپیدی سرم (کلسترول تام، تری گلیسیرید، LDL) در میزبان است. در این تحقیق اثرات مصرف مصرف شیر حاوی لاکتوباسیلوس فرمانتوم در رت های مورد آزمایش در مدت ۸ هفته بررسی گردید.

در مقایسه رت های تغذیه شده گروه دارای رژیم غذایی نرمال (N) و رژیم غذایی پرچرب (HF) افزایش قابل توجهی (۲۱ درصد) از میزان کلسترول مشاهده گردید. نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که باکتری لاکتوباسیلوس فرمانتوم، میزان کلسترول، تری گلیسیرید و LDL سرم را در رت های تغذیه شده با رژیم پرچرب (HF-L)، به طور معنی داری کاهش داد ( $P<0.05$ ). گروه HF-L، ۱۹ درصد کاهش در تری گلیسیرید و هم چنین ۲۱ درصد کاهش در محتویات کلسترول سرم نسبت به گروه تغذیه شده با

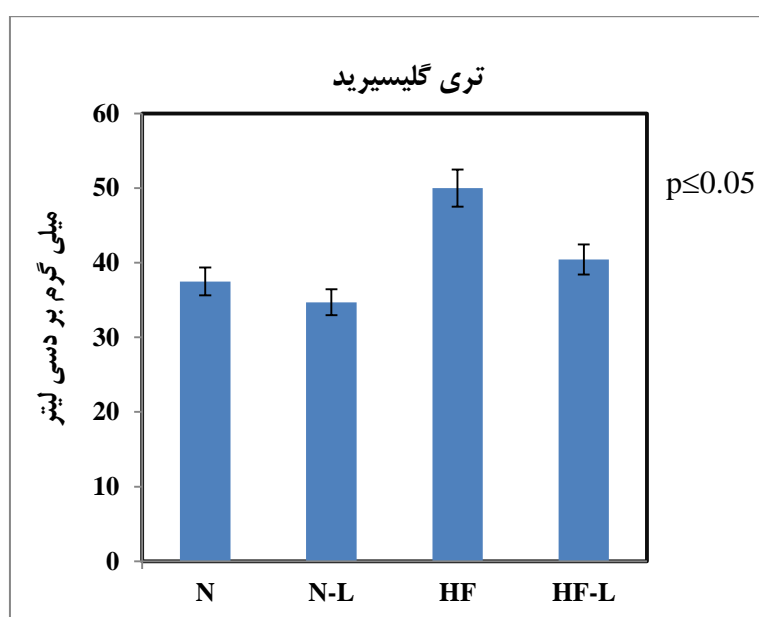
رژیم غذایی پرچرب بدون پروبیوتیک (HF) نشان داد (نمودار شماره ۱ و ۲). هم چنین میزان LDL سرمی در گروه HF-L در مقایسه با گروه HF نیز ۱۸ درصد کاهش یافته بود (نمودار شماره ۳). همان طور که در نمودار شماره ۴ مشاهده می گردد، اختلاف معنی داری (۲۴ درصد افزایش) در میزان HDL سرم گروه HF-L در برابر گروه HF وجود داشت ( $P<0.05$ ).

با این حال، در میان گروه های N با یا بدون باکتری پروبیوتیک در سطوح کلسترول، تری گلیسیرید، LDL و HDL سرم، تفاوت معنی داری مشاهده نگردید ( $P<0.05$ ). البته کاهش در خصوص تری گلیسیرید (۸ درصد) در رت های گروه دارای تغذیه نرمال همراه با پروبیوتیک (N-L) بیشتر از کاهش در میزان کلسترول (۴ درصد) و LDL (۶ درصد) سرم در رت های دارای تغذیه نرمال بود. به طور کلی مشاهده شد که فاکتورهای لیپیدی سرم در رت های تغذیه شده با شیر تخمیر یافته توسط باکتری پروبیوتیک (N-L و HF-L) در مقایسه با گروه کنترل بدون مکمل پروبیوتیک (N و HF) تفاوت داشتند.

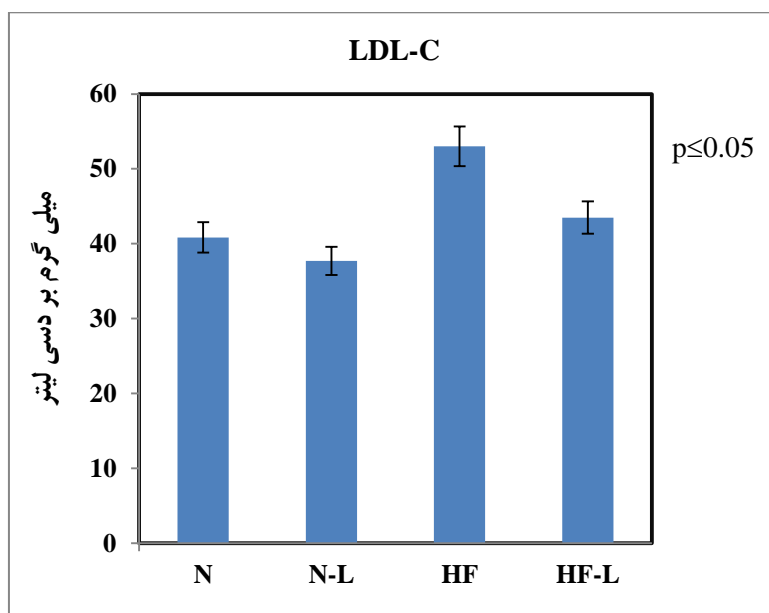
هم چنین میزان تغییرات و افزایش وزن بدن منعکس کننده اثرات کلی ضد چاقی پروبیوتیک ها در داخل بدن موجود زنده است. نتایج مربوط به میزان افزایش وزن در گروه های مورد بررسی در طول مدت نگهداری در نمودار شماره ۵ نشان داده شده است که بر اساس این نمودار، اضافه وزن بدن در بین رت های تغذیه شده با غذای معمولی (N) و تغذیه شده با غذای معمولی همراه با شیر تخمیر یافته با باکتری لاکتوباسیلوس (N-L)، اختلاف معنی داری نداشت، در حالی که با گروه تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب (HF) تفاوت معنی داری مشاهده گردید ( $P<0.01$ ). میانگین افزایش وزن بدن در گروه HF در حدود ۲۰ درصد نسبت به گروه N بالاتر بود. در مقابل، افزایش وزن در گروه HF-L به طور قابل توجهی پایین تر (۱۵ درصد) از گروه HF نشان داده شد. این کاهش وزن بدن در گروه HF-L که قابل مقایسه با گروه N می باشد، نشان می دهد که لاکتوباسیلوس فرمانتوم می تواند افزایش وزن بدن را کنترل کند.



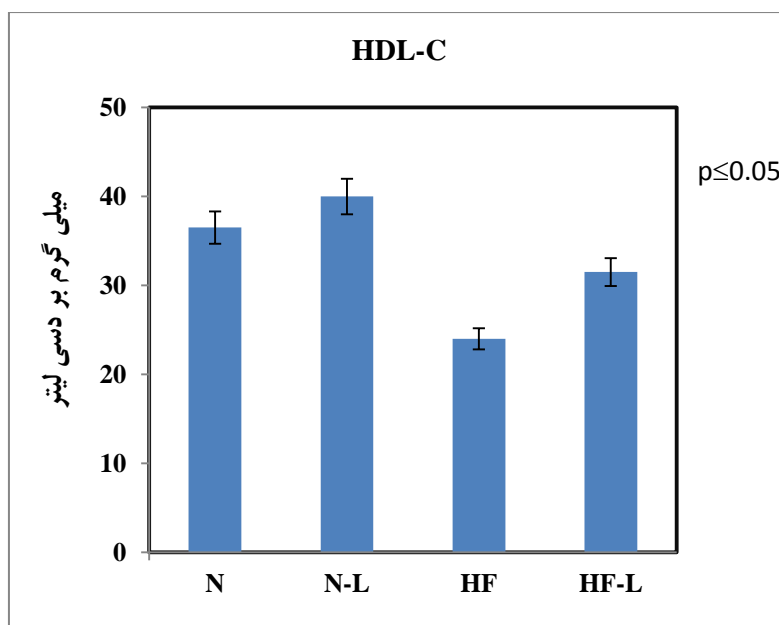
نمودار شماره ۱. بررسی تغییرات آماری کلسترول در رت ها (N: گروه نرمال، N-L: گروه تغذیه شده با رژیم غذایی معمولی+شیر تخمیر یافته با لاکتوباسیلوس فرماتوم، HF: گروه تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، HF-L: گروه دریافت کننده غذای پرچرب+شیر تخمیر یافته با لاکتوباسیلوس فرماتوم)



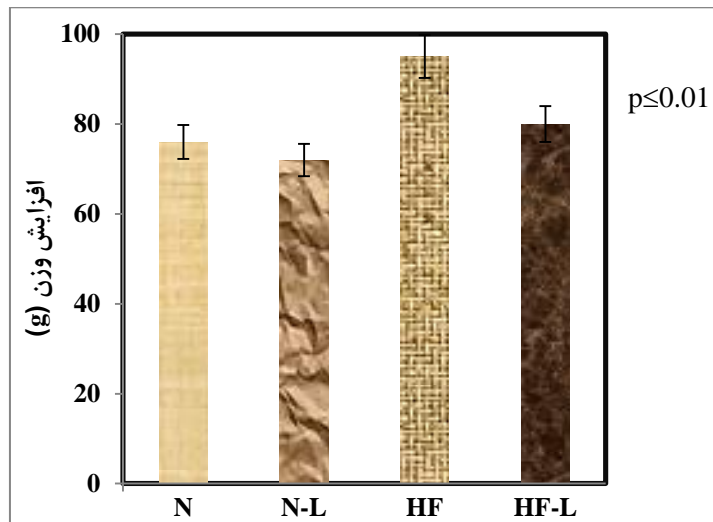
نمودار شماره ۲. بررسی تغییرات آماری تری گلیسیرید در رت ها (N: گروه نرمال، N-L: گروه تغذیه شده با رژیم غذایی معمولی+شیر تخمیر یافته با لاکتوباسیلوس فرماتوم، HF: گروه تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، HF-L: گروه دریافت کننده غذای پرچرب+شیر تخمیر یافته با لاکتوباسیلوس فرماتوم)



نمودار شماره ۳. بررسی تغییرات آماری LDL-C در رت ها (N: گروه نرمال، N-L: گروه تغذیه شده با رژیم غذایی معمولی+شیر تخمیر یافته با لاکتوباسیلوس فرماتوم، HF: گروه تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، HF-L: گروه دریافت کننده غذای پرچرب+شیر تخمیر یافته با لاکتوباسیلوس فرماتوم)



نمودار شماره ۴. بررسی تغییرات آماری HDL-C در رت ها (N: گروه نرمال، N-L: گروه تغذیه شده با رژیم غذایی معمولی+شیر تخمیر یافته با لاکتوباسیلوس فرماتوم، HF: گروه تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، HF-L: گروه دریافت کننده غذای پرچرب+شیر تخمیر یافته با لاکتوباسیلوس فرماتوم)



نمودار شماره ۵. میانگین افزایش وزن بر حسب گرم در گروه های تحت تیمار و کنترل در طول دوره (N: گروه نرمال، N-L: گروه تغذیه شده با رژیم غذایی معمولی+شیر تخمیریافته با لاکتوباسیلوس فرماتوم، HF: گروه تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، HF-L: گروه دریافت کننده غذای پرچرب+شیر تخمیریافته با لاکتوباسیلوس فرماتوم)

### بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق، اثرات شیر تخمیریافته توسط لاکتوباسیلوس فرماتوم جدا شده از ماست سنتی بر متابولیت های لیپیدی سرم رت آزمایشگاهی تغذیه شده با غذای نرمال و پرچرب، مورد بررسی قرار گرفت. هم چنین در طول دوره نگهداری میزان افزایش وزن رت ها نیز اندازه گیری شد تا تاثیر باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس فرماتوم بر پیشگیری از چاقی و اضافه وزن این حیوانات، ارزیابی گردد.

نتایج به دست آمده نشان داد که مصرف روزانه و به مدت ۸ هفته از شیر تخمیریافته توسط لاکتوباسیلوس فرماتوم، میزان کلسترول، تری گلیسیرید و LDL سرم رت های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب را کاهش و مقدار HDL سرم را به طور معنی داری افزایش می دهد ( $P < 0.05$ ). البته در میان گروه های تغذیه شده با غذای نرمال با یا بدون باکتری پروبیوتیک در سطوح کلسترول، تری گلیسیرید، LDL و HDL سرم، تفاوت معنی داری مشاهده نگردید ( $P < 0.05$ ).

پان و همکاران، لاکتوباسیلوس فرماتوم SM-7 را از یک نوشیدنی شیر تخمیر شده جدا کرده و گزارش کردند، این سویه به طور قابل توجهی کلسترول و

LDL-C سرم در موش را کاهش داد، اما تاثیر معنی داری در افزایش HDL-C نداشت. این مطالعه هم چنین نشان داد که هیچ نوع انتقال باکتری به کبد، کلیه و طحال در موش های درمان شده وجود ندارد که ایمنی سویه لاکتوباسیلوس را نشان می دهد (۲۱). هم چنین تاراتو و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که کشت لاکتوباسیلوس روتری در جلوگیری از هایپرکلسترولمیا در موش موثر بوده و سبب کاهش کلسترول تام (۲۲ درصد) و تری گلیسیرید (۳۳ درصد) و افزایش ۱۷ درصد نسبت HDL به LDL سرمی شده است (۲۲). در تحقیق دیگری که در خصوص اثر باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ATCC 43121 بروی متابولیسم کلسترول در رت با هایپرکلسترولمی القاء شده انجام گرفت، مشاهده شد که افزایش اسیدهای صفراوی نامحلول، سطح کلسترول را در رت ها کاهش داد (۲۳). پژوهش دیگری نشان داد که میکروارگانسیم های پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم CRL 183 در خرگوش می تواند برای بهبود پروفایل چربی به عنوان یک جایگزین یا کمک برای درمان دارویی مورد استفاده قرار بگیرد (۱۶). هم چنین، آرون و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که مکمل غذایی لاکتوباسیلوس اسپروژنز ( $10^8 \times 6$  اسپور در هر گرم) در

صورت گرفته، معمولاً اثرات کاهش کلسترول توسط پروبیوتیک ها مشاهده شده است.

هم چنین نتایج مربوط به میزان افزایش وزن در گروه های مورد بررسی نشان داد که افزایش وزن در در بین گروه های تغذیه شده با غذای طبیعی، تفاوت چندانی با هم نداشتند، در حالی که افزایش وزن در گروه مصرف کننده غذای پرچرب همراه با پروبیوتیک، به طور معنی داری پایین تر از گروه تغذیه کننده با رژیم پرچرب بدون پروبیوتیک بود ( $P < 0.01$ ). بنا بر این به نظر می رسد که سویه لاکتوباسیلوس فرمانتوم به کار رفته در این تحقیق می تواند افزایش وزن بدن را کنترل کند و اثر پیشگیری کننده در چاقی و اضافه وزن داشته باشد.

هم چنین هاماد و همکاران اظهار داشتند که شیر تخمیر یافته با لاکتوباسیلوس گاسری SBT2055 می تواند از طریق ممانعت از جذب چربی، باعث کاهش چربی بدن و در نتیجه اضافه وزن گردد. افزایش ترشح اسیدهای صفراوی در مدفوع نیز می تواند باعث افزایش سنتز اسیدهای صفراوی گردد و این فرآیند ممکن است در کاهش وزن، نقش داشته باشد (۲۹). هم چنین چوی و همکاران گزارش کردند که باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم انیمالیس DY-64، باعث کاهش وزن بدن (۱۷ درصد) در رت های دارای رژیم غذایی با کلسترول بالا در مقایسه با گروه کنترل (تغذیه شده با کلسترول بالا بدون پروبیوتیک) گردید (۳۰). اگر چه مطالعات اخیر، اثرات ضد چاقی و کاهش چربی توسط پروبیوتیک ها را نشان داده اند (۳۱، ۳۲)، اما نتایج بحث برانگیزی نیز گزارش شده است. در سال ۲۰۱۰، بین و همکاران اثر ضد چاقی ۴ سویه بیفیدوباکتریوم را در رت های چاق بررسی کردند. آن ها مشاهده کردند که ۳ سویه قادر به پیشگیری از اضافه وزن حیوانات در مقایسه با گروه شاهد بودند، در حالی که یکی از سویه ها (بیفیدوباکتریوم M13-4) باعث افزایش وزن قابل توجهی در رت ها گردید (۳۳). در پژوهشی که توسط سالاج و همکاران در خصوص اثر دو سویه لاکتوباسیلوس پلانتراروم بر روی افزایش وزن در رت های تغذیه شده با غذای پرچرب صورت گرفت، مشاهده شد که گروه تغذیه شده با پروبیوتیک در

۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم رژیم غذایی، غلظت کلسترول تام، تری گلیسیرید و VLDL را در سرم جوجه های گوشتی به طور قابل توجهی کاهش می دهد (۲۴).

در مقابل مدل های حیوانی، مطالعات متعددی بالینی در انسان نیز انجام شده است. در پژوهشی، ارزیابی اثر باکتری های اسیدلاکتیک در سطح کلسترول سرم در ۵۴ داوطلب انجام شد که کاهش سطح کلسترول سرم ۱۰-۵ درصد پس از چند هفته مصرف ماست تخمیر شده با لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس دیده شد (۲۵). مطالعه اخیری توسط جونز و همکاران انجام شد که ۱۱۴ بزرگسال با هایپر کلسترولمی، ماست حاوی میکروانکپسول لاکتوباسیلوس روتری NCIM 30242، دو بار در روز به مدت ۶ هفته، مصرف کردند. این مطالعه با کنترل دارونما، نشان داد که در LDL سرم (۹ درصد) و کلسترول (۵ درصد) در مقایسه با دارونما کاهش قابل توجهی داشت، اما غلظت سرمی HDL بدون تغییر باقی ماند (۲۶).

اگر چه، بسیاری از مطالعات اثر کاهشنده کلسترول توسط پروبیوتیک ها را در حیوانات و انسان نشان داده اند، نتایج متناقضی نیز ظاهر شده است. یک مطالعه توسط هاتاگا و همکاران (۲۰۰۸) اثر پروبیوتیک ها را در کاهش کلسترول رد می کند و گزارش داده که کشت لاکتوباسیلوس رامنوسوس LC705 (CFU  $10^{10}$  در گرم در هر کپسول، دو کپسول در روز) پس از یک دوره درمان ۴ هفته ای، تاثیری بر پروفایل لیپیدی خون در ۳۸ مرد با میانگین کلسترول ۶/۲ میلی مول بر لیتر، نداشت (۲۷). در مطالعه سیمونز و همکاران (۲۰۰۶) که جهت ارزیابی تاثیر مصرف لاکتوباسیلوس فرمانتوم، (CFU  $2 \times 10^9$  در هر کپسول) بعد از ۱۰ هفته در ۴۶ داوطلب انجام شد، هیچ تغییری در پروفایل چربی مشاهده نگردید (۲۸). به نظر می رسد، نتایج متناقض حاصل از تحقیقات مختلف، عمدتاً مرتبط با طراحی آزمایش به خصوص استفاده از نمونه های ناکافی و تغییرات در سطوح پایه چربی های خون باشد. البته در اکثر آزمایشات کلینیکی انسانی که در سال های اخیر



نتایج حاصل از این مطالعه، می توان از این باکتری در زمینه های مختلف درمانی و غذایی بهره برد. با توجه به این که برخی از سویه های پروبیوتیک، خواص کاهش کلسترول را نشان داده اند و بسیاری از مکانیسم های پیشنهادی در خصوص اثر کاهش کلسترول، بحث برانگیز باقی مانده است، بنا بر این شناسایی گونه های مختلف پروبیوتیک و توجیه اثرات مختلف کاهش کلسترول و فهم بهتر مکانیسم های اساسی و ارزیابی بهتر ایمنی قبل از مصرف نیاز به مطالعات بیشتری در شرایط *in vivo* و *in vitro* دارد.

#### References

1. Shafie EL. Hypocholesterolemic Action of *Lactobacillus plantarum* NRRL-B-4524 and *Lactobacillus paracasei* on Mice with hypercholesterolemia induced by diet. *Aust J Bas Appl Sci* 2009; 3: 218-28.
2. Fazeli H, Moshtaghian J, Mirlohi M, Shirzadi M. Reduction in serum lipid parameters by incorporation of a native strain of *Lactobacillus plantarum* A7 in Mice. *Iran J Diabetes Lipid Disorders* 2010; 9:1-7.
3. Aloglu H, Oner Z. Assimilation of cholesterol in broth cream and butter by probiotic bacteria. *Euro J Lipid Sci Technol* 2006; 108:709-13.
4. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries the interheart study case control study. *Lancet* 2004; 364: 937-52.
5. Singroha G, Pandey N, Malik RK, Mishra SK. Hypocholesterolemic effect of a *Lactobacillus gasseri* strain Lg70 isolated from breast fed human infant feces. *J Inn Biol* 2014; 1:105-11.
6. Davis CE, Rifkind BM, Brenner H, Gordon DJ. A single cholesterol measurement underestimates the risk of coronary heart disease: An empirical example from the Lipid Research Clinics mortality follow-up study. *J Am Med Assoc* 1990; 64: 3044-6.
7. Manson JE, Tosteson H, Ridker PM, Satterfield S, Hebert P, Oconnor GT, et al. The primary prevention of myocardial

مقایسه با گروه کنترل دارای افزایش وزن بیشتری بودند که تصور می شود به دلیل افزایش جذب چربی در بدن رت ها توسط این سویه های لاکتوباسیلوس باشد (۳۴).

در مجموع می توان گفت که مصرف شیری تخمیر یافته توسط لاکتوباسیلوس فرماتوم از طریق کاهش کلسترول تام، تری گلیسیرید و LDL و افزایش قابل توجه HDL سرمی، الگوی لیپیدی سرم را در رت های آزمایشگاهی، بهبود بخشید. هم چنین این باکتری پروبیوتیک دارای اثر پیشگیری کننده چاقی و اضافه وزن در جاندار می باشد، بنا بر این با توجه به

- infarction. *N Engl J Med* 1992; 326: 1406-16.
8. Dunne S, Weider G, Ornish D. Benefits of a low fat based diet. *Obes Res* 2001; 9: 731.
9. Bliznakov EG. Lipid lowering drugs statins cholesterol coenzyme Q10 the baycol case a modern Pandoras box. *Biomed Pharmacother* 2002; 56: 56-9.
10. Roberfroid M. Prebiotics the concept revisited. *J Nutr* 2007; 137: 830-7.
11. Haukioja, A. Probiotics and oral health. *Eur J Dent* 2010; 4: 348-55.
12. Homayouni A, Payahoo L, Azizi A. Effects of probiotics on lipid profile a review. *Am J Food Technol* 2012; 7: 251-65.
13. Liang MT, Shah NP. Roles of probiotics and prebiotics on cholesterol the hypothesized mechanisms. *Nutrafoods* 2005; 4: 45-57.
14. Shaper AG, Jones KW, Jones M, Kyobe J. Serum lipids in three nomadic tribes of northern Kenya. *Am J Clin Nutr* 1963; 13: 135-46.
15. Mann GV, Spoerry A. Studies of a surfactant and cholesteremia in the Maasai. *Am J Clin Nutr* 1974; 27: 464-9.
16. Cavallini DCU, Bedani R, Bomdespacho LQ, Vendramini RC, Rossi EA. Effects of probiotic bacteria, isoflavones and simvastatin on lipid profile and atherosclerosis in cholesterol fed Rabbits a randomized double blind study. *Lipids Health Dis* 2009; 8: 1.
17. Gao D, Zhu G, Gao Z, Liu Z, Wang L, Guo W. Antioxidative and hypolipidemic effects of lactic acid bacteria from pickled

- chinese cabbage. *J Med Plants Res*2011; 5: 1439-46.
18. Corzo G, Gilliland SE. Bile salt hydrolase activity of three strains of *Lactobacillus acidophilus*. *J Dairy Sci* 1999; 82: 472-80.
19. Ahn YT, Kim GB, Lim KS, Baek YJ, Kim HU. Deconjugation of Bile Salts by *Lactobacillus acidophilus* Isolates. *Inter Dairy J*2003; 13: 303-11.
20. Mishra V, Prasad DN. Application of *In vitro* methods for selection of *Lactobacillus casei* strains as potential probiotics. *Int J Food Microbiol*2005; 103: 109-15.
21. Pan DD, Zeng XQ, Yan YT. Characterisation of *Lactobacillus fermentum* SM-7 Isolated from Koumiss, a Potential Probiotic Bacterium with Cholesterol-lowering Effects. *J Sci Food Agr*2011; 91:512-8.
22. Taranto MP, Medici M, Perdigon G, Ruizholgado AP, Valdez GF. Effect of *lactobacillus reuteri* on the prevention of hypercholesterolemia in Mice. *J Dairy Sci*2000; 83: 401-3.
23. Park YH, Kim JG, Shin YW, Kim SH, Whang KY. Effect of dietary inclusion of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 on cholesterol metabolism in Rats. *J Microbiol Biotechnol*2007; 17: 655-62.
24. Arun A, Murrugappan RM, Ravindran ADD, Veeramanikandan V, Balaji S. Utilization of various industrial wastes for the production of poly- $\beta$ -hydroxy butyrate by *Alcaligenes eutrophus*. *Afr J Biotechnol*2006; 5: 1524-7.
25. Schaafsma G, Meuling WJA, Van Dokkum W, Bouley C. Effects of a milk product, fermented by *Lactobacillus acidophilus* and with fructooligosaccharides added, on blood lipids in male volunteers. *Eur J Clin Nutr*1998; 52: 436-40.
26. Jones ML, Martoni CJ, Parent M, Prakash S. Cholesterol-lowering Efficacy of a Microencapsulated Bile Salt Hydrolase-active *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242 Yoghurt formulation in hypercholesterolaemic adults. *Br J Nutr*2012; 107: 1505-13.
27. Hatakka K, Mutanen M, Holma R, Saxelin M, Korpela R. *Lactobacillus rhamnosus* LC705 together with *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *Shermanii* JS administered in capsules is ineffective in lowering serum lipids. *J Am Coll Nutr* 2008; 27: 441-7.
28. Simons LA, Amansec SG, Conway P. Effect of *Lactobacillus fermentum* on serum lipids in subjects with elevated serum cholesterol. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006; 16: 531-5.
29. Hamad EM, Sato M, Uzu K, Yoshida T, Higashi S, Kawakami H, et al. Milk fermented by *Lactobacillus gasseri* SBT2055 influences adipocyte size via inhibition of dietary fat absorption in Zucker Rats. *Br J Nutr*2009; 101: 716-24.
30. Choi SH, Lee MY, Jhon DY, Choi Y, Lee JJ. Antiobesity and cholesterol-lowering effects of bifidobacteria animalis dy-64 in rats fed a high-fat/high-cholesterol diet. *Korean J Food Sci An*2013; 33: 701-7.
31. An HM, Park SY, Lee DK, Kim JR, Cha MK, Lee SW, et al. Antiobesity and lipid lowering effects of *Bifidobacterium* spp. in high fat diet-induced obese rats. *Lipids Health Dis*2011; 10: 116.
32. Sato M, Uzu K, Yoshida T, Hamad EM, Kawakami H, Matsuyama H, et al. Effects of milk fermented by *Lactobacillus gasseri* SBT2055 on adipocyte size in rats. *Br J Nutr*. 2008;99: 1013-7.
33. Yin YN, Yu QF, Fu N, Liu XW, Lu FG. Effects of four *Bifidobacteria* on obesity in high fat diet induced rats. *World J Gastroenterol*2010; 16: 3394-401.
34. Salaj R, Stofilova J, Soltesova A, Hertelyova Z, Hijova E, Bertkova I, et al. The effects of two *Lactobacillus plantarum* strains on Rat lipid metabolism receiving a high fat diet. *Sci World J* 2013;6:41-9.

## A study on the Effects of *Lactobacillus fermentum*-fermented Milk Consumption on Lipid Patterns of Rats Fed with a High Fat Diet

Parhamfar M<sup>1\*</sup>, Khaleghi M<sup>1</sup>, Fahimirad S<sup>2</sup>, Moazemigodarzi M<sup>3</sup>

(Received: September 10, 2016)

Accepted: November 9, 2016)

### Abstract

**Introduction:** Hypercholesterolemia is a risk factor for cardiovascular diseases. Several studies have shown that some lactobacillus strains can reduce cholesterol. The purpose of this study was to evaluate the effects of *Lactobacillus fermentum* isolated from the traditional yogurt on body weight and lipid trends in rats fed with a high-fat diet.

**Materials & methods:** Forty male rats (200±20 gr) were randomly divided into four groups. Rats in the first group received normal diet (N), the second group consumed normal diet with fermented milk containing *L. fermentum* (N-L), the third group received a high-fat diet to induce hypercholesterolemia (HF), and the fourth group were fed in a high-fat diet with fermented milk containing *L. fermentum* (HF-L). After 8 weeks, body weights and lipid metabolisms were measured.

**Findings:** In the rats fed with a high-fat diet of fermented milk containing *L. fermentum* (HF-L), serum total cholesterol, LDL-C,

and triglycerides levels were significantly lower than that of the group fed with a high-fat diet without probiotic supplementation (HF), whereas the serum HDL-C level significantly increased ( $p<0.05$ ). However, mean levels of serum cholesterol, LDL-C, triglycerides, and HDL-C were not markedly different among the N groups (N, N-L). Also, the gain in body weight of the HF group was significantly heavier than that of the HF-L group ( $p<0.01$ ).

**Discussion & conclusions:** This study suggests that consumption of milk fermented by *L. fermentum* improves serum lipid trends in rats by lowering serum total cholesterol, triglycerides, LDL-C levels, as well as by increasing HDL-C level. It also plays a role in the prevention of obesity induced by a high-fat diet.

**Keywords:** lactobacillus fermentum, cardiovascular diseases, high-fat diet, serum cholesterol

1. Dept of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

2. Dept of Biotechnology, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3. Dept of Biotechnology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

\* Corresponding author Email: mary\_parhamfar@yahoo.com