

۱. نسیم گل سرخی (نویسنده مسئول)، کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران مرکز
۲. سارا آزادپیم، کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز
۳. علی حسین خانی، کارشناسی سلولی مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران مرکز،
عضو باشگاه پژوهشگران و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز

درمان بیماری اسهال توسط باکتری های پروبیوتیک – بخش ۲

در شماره قبل، مروری بر بیماری اسهال و تاثیر باکتری های پروبیوتیک در درمان آن داشتیم. در بخش دوم این مقاله به نقش انواع باکتری های شاخص پروبیوتیکی در کاهش علائم اسهال اشاره خواهد شد. به نظر می رسد که زندگی مرفه امروزی و رژیم های غذایی نامناسب سبب ایجاد مشکلات فیزیولوژیکی متعددی گشته و در نهایت موجب عملکرد ضعیف کولون و ایجاد بیماری اسهال می شود. با توجه به نقش باکتری های ساکن روده در فرایندهای متابولیکی و اثر پروبیوتیک ها در حفظ تعادل بار میکروبی روده می توان نتیجه گرفت که ارتباط تنگاتنگی بین میکروبیوم روده و بیماری اسهال وجود دارد. بررسی انواع سویه های پروبیوتیکی روی گروه های مختلف آزمایشی، منجر به دستیابی به نتایج بهتر و دقیق تر در درمان افراد بیمار خواهد شد.

داروهای پروبیوتیک

پروبیوتیک ها ارگانیزم های غیربیماری زایی (نظیر *Lactobacillus acidophilus* و *Saccharomyces boulardii*) هستند که در روده ی بیمار تکثیر شده و متابولیت هایی تولید می کنند که اسیدیته ی مدفوع را افزایش و مانع از رشد انتروپاتوژن ها می شود. آن ها از حمله ی باکتری ها در بافت روده جلوگیری کرده و اسیدهای چرب کوتاه زنجیره تولید می کنند که برای ترمیم روده نیز مفید هستند و میزان جذب آب و الکترولیت را افزایش می دهند. در کودکان، مطالعات نشان می دهد که استفاده از پروبیوتیک ها می تواند دوره ی بالینی اسهال حاد را کاهش دهد (۲۸-۳۰). در بزرگسالان، آن ها عمدتاً در اسهال مزمن و عود مجدد انتروکولیت مرتبط با آنتی بیوتیک استفاده می شوند. طی مطالعات بالینی انجام شده هیچ اثرات جانبی طی مصرف این داروها در گروه های مورد آزمایش مشاهده نشده است. بنابراین امروزه روی داروهای پروبیوتیک بسیار تحقیق و بررسی می شود (۶).

نقش پروبیوتیک ها در درمان اسهال

پروبیوتیک ها می توانند نقش کلیدی را در از بین بردن اسهال ایفا کنند. روده ما از میلیاردها میلیارد باکتری خوب

و بد تشکیل شده و زمانی که یک عدم تعادل (در اثر به وجود آمدن عفونت ها و یا مصرف آنتی بیوتیک ها) در این سطوح باکتریایی رخ می دهد، می تواند اغلب منجر به علائم گوارشی نظیر اسهال شود. پروبیوتیک ها می توانند به بازگرداندن این تعادل کمک کنند. اثربخشی یک باکتری پروبیوتیک اغلب بستگی به تعامل با میکروفلور خاص میزبان و یا سلول های دستگاه ایمنی دارد. روده با سیستم لنفاوی همراه آن بزرگترین ارگان ایمونولوژیکی در بدن است. بلوغ سیستم ایمنی بدن بعد از تولد بستگی به چگونگی توسعه و نوع ترکیب میکروفلور بومی دارد. تحقیقات نشان داده که بسیاری از میکروارگانیزم های پروبیوتیک برای مهار رشد و فعالیت متابولیکی باکتری های پاتوژن کاربرد دارد و نیز موجب مهار چسبندگی باکتری های پاتوژن (*Salmonella*, *Shigella*, *enterotoxigenic E.coli* و *Vibrio cholerae*) به سلول های روده می گردد. هم چنین با تحریک سیستم ایمنی می توانند موجب تنظیم آن بگردند. از جمله مکانیزم های پیشنهادی اثر پروبیوتیک ها روی میکروفلور روده می توان به : کاهش PH روده، تولید مواد ضد باکتریایی نظیر اسیدهای آلی (لاکتیک، استیک و بوتیریک اسید) و H2O2 و باکتریوسین ها، آگلوتیناسیون



میکروارگانسیم های پاتوژن، اتصال به سطح سلول های مخاط، رقابت بر سر سوبستراها یا رسیپتور های قابل تخمیر، تقویت اثر سد مخاطی روده، انتشار متابولیت های محافظ روده (آرژنین، گلوتامین، اسید های چرب کوتاه زنجیره و اسید های لینولئیک کنژوگه)، مکانسیم های ایمونولوژیک و یا تنظیم حرکات روده ای و تولید موکوس می گردد (۳۱).

مکانسیم عمل پروبیوتیک ها

باکتری های پروبیوتیک با مکانسیم های مختلفی می توانند دوره ی اسهال را کاهش دهند از جمله: مسدود کردن رقابتی گیرنده ها توسط باکتری های پروبیوتیک، تقویت پاسخ های سیستم ایمنی، تولید مواد ضد میکروبی و تداخل با فاکتور سیگنالینگ کروم سنسینگ از جمله این مکانسیم ها هستند (۳۲-۳۴).

حذف رقابتی میکروارگانسیم ها

براساس مطالعات انجام شده ، باکتری های پروبیوتیک با ایجاد یک محیط آنتاگونیست ، مسدود کردن رسیپتورهای باکتریایی قابل دسترس، تولید و ترشح متابولیت ضد میکروبی و رقابت بر سر مواد غذایی ضروری قادر به حذف یا کاهش رشد پاتوژن ها می باشند. به طور مثال *Lactobacillus GG* و *Lactobacillus plantarum 299V* به طور رقابتی اتصال *enterohemorrhagic E.coli O157H7* را به سلول های HT-۲۹ مهار می کنند (۳۵،۳۶).

تولید مواد ضد میکروبی

متابولیت ضد میکروبی تولید شده توسط پروبیوتیک ها، می توانند سبب مهار تکثیر پاتوژن ها شوند. این ها ترکیباتی با وزن مولکولی پایین (LMW) هستند (Da > ۱۰۰۰). مهمترین این ترکیبات LMW، اسید های چرب کوتاه زنجیره هستند. اسید های آلی به خصوص اسید استیک و اسید لاکتیک، رشد باکتری های گرم منفی را مهار می کنند (۳۷). همچنین، باکتریوسین های با وزن مولکولی کم (LMWB) و نیز باکتریوسین های با وزن مولکولی بالا

که توسط لاکتوباسیلوس ها تولید می شوند ، می توانند تکثیر پاتوژن ها را مهار کنند. برخی باکتری های اسید لاکتیک (LAB)، باکتریوسین تولید می کنند. به عنوان مثال، لاکتاسین B توسط *L.acidophilus* و پلانتاریسین و نیسین توسط *L.plantarum* تولید می شوند (۳۸).

برخی از مکانسیم های احتمالی باکتریوسین ها، تشکیل منافذ در غشای سلولی و مهار سنتز دیواره ی سلولی است (۳۹). مطالعات انجام شده روی باکتری های پروبیوتیک نشان داده که برخی از آن ها توانایی تولید ترکیبات ضد میکروبی دارند. *Lactobacillus reuteri* توانایی تولید آنتی بیوتیک روترین را دارد که یک آنتی بیوتیک وسیع الطیف است که نه تنها در برابر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی فعالیت دارد، بلکه در مقابل مخمر ها، قارچ ها، پروتوزوا و ویروس ها نیز فعالیت می کند (۴۰). بیفیدوباکتریوم ها و لاکتوباسیلوس های روده ای نیز اسید های چربی مانند لینولئیک اسید کونژوگه (CLA) تولید می کنند که یک عامل ضد سرطان قوی است (۴۱،۴۲). در نهایت، تولید متابولیت ها و مشتقات نمک های صفراوی توسط برخی سویه های پروبیوتیکی می تواند رشد قارچ ها و سایر گونه های باکتریایی را سرکوب کند (۴۳،۴۴). به عنوان مثال، لاکتوباسیلوس می تواند مواد ضد قارچ مثل بنزوئیک اسید، متیل هیدانتوئین ، موالونولاکتون و اسید های چرب کوتاه زنجیره را تولید کند (۴۵-۴۷).

پاسخ های سیستم ایمنی

باکتری های پروبیوتیک می توانند روی انواع سلول های درگیر در پاسخ ایمنی ذاتی و اختصاصی،

مانند سلول های اپیتلیال، دندریتیک سل ها، مونوسیت/ ماکروفاژ ها، سلول های B، سلول های T، سلول های T تنظیمی و سلول های NK تاثیر بگذارند و با تقویت سیستم ایمنی، سبب بهبود علائم بیماری اسهال می شود (۴۸).

• اثر باکتری های پروبیوتیک بر دندریتیک سل ها: سلول های دندریتیک (DCs)، سلول های عرضه کننده ی آنتی ژن هستند که به عنوان یک پیام بر، بین سیستم ایمنی ذاتی و اختصاصی عمل می کند. عملکرد خاص DC در روده منجر به القای تحمل آنتی ژن های خوراکی با توسعه ی سلول های T تنظیمی و تولید IgA توسط سلول های B از طریق تولید سایتوکاین هایی مثل IL-10 و TGF β می شود (۴۹،۵۰). باکتری های پروبیوتیک می توانند پاسخ های Th1 را تنظیم کرده و فعالیت آن ها را کاهش دهند و تولید سایتوکاین های پیش التهابی مانند: IL-12، TNF- α و IFN- γ را که توسط DC ها تولید می شوند، مهار کنند (۵۱).

• اثر باکتری های پروبیوتیک روی لنفوسیت های B: خوراندن L.rhamnosus GG به کودکان دچار گاستروانتریت حاد، پاسخ های ایمنی هومورال غیر اختصاصی را با افزایش ترشح IgA، IgG و IgM از لنفوسیت های در گردش، افزایش می دهد (۵۲). در آزمایش واکسیناسیون، اثرات باکتری های پروبیوتیک روی لنفوسیت های B اثبات شده است. مطالعات نشان می دهد که ترکیب واکسیناسیون L.rhamnosus GG و Salmonella می تواند سطوح IgA را در برابر آن سالمونلای خاص افزایش دهد (۵۳).

• اثرات باکتری های پروبیوتیک روی سلول های کشنده ی طبیعی (NK): اخیراً، در یک مطالعه ی روی حیوانات، ثابت شده که گونه ی L.casei با پری بیوتیکی مانند دکستران، فعالیت سلول های NK را در سلول های تک هسته ای طحال موش BALB/c افزایش می دهد و مصرف خوراکی آن، تولید IL-12 را در سلول های تک هسته ای خونی انسان افزایش می دهد (۵۴). ترشح IL-22 توسط سلول های NK، اثرات ضد التهابی روی سلول های اپیتلیال در شرایط آزمایشگاهی دارد. علاوه بر این، فعالیت سلول های NK با مصرف شیر کم چرب همراه با B.lactis HNO19، افزایش می یابد (۵۵).

• اثرات باکتری های پروبیوتیک روی سلول ها: پاسخ سلول های T، عمدتاً با واکنش بین DC ها و سلول های T کنترل می شود. بررسی اثر مونوسیت های مشتق از دندریتیک سل های پرورده شده با L.rhamnosus، نشان می دهد که تکثیر سلول های T و سایتوکاین های مترشحه از آن ف به ویژه IL-2 و IL-4 و IL-10، به طور چشمگیری کاهش یافته است (۵۶).

• تداخل با فاکتور سیگنالینگ کروم سنسینگ: ارتباط باکتری ها با هم و نیز با محیط اطرافشان، از طریق مولکول های سیگنالینگ شیمیایی است که خود القاگر نامیده می شوند. این پدیده به عنوان کروم سنسینگ (QS) شناخته می شود که می تواند تراکم جمعیت، غلظت مواد مغذی و سایر ویژگی های زیست محیطی را بسنجد. علاوه بر این، QS می تواند بیان ژن تمامی جامعه را در پاسخ به تغییرات در تعداد سلول ها، کنترل کند. باکتری های پروبیوتیک مانند Lactobacillus Bifidobacterium و سویه های B.cereus می توانند خود القاگر هایی را تولید کنند که بتوانند بیان ژن های بیماری زا را در میکروارگانیسم های متعدد کنترل کنند. L.acidophilus La-5 ترکیبی را ترشح می کند که تولید خود القاگر را توسط E.coli O157 کاهش می دهد و از طریق آن، منجر به کاهش قابل توجهی در رونویسی از ژن های درگیر در کلونیزاسیون می شود. اخیراً، مطالعات زیادی، نتایج مشابهی برای B.cereus و B.toyoi گزارش کرده اند (۵۷،۵۸).

سویه های پروبیوتیکی مورد استفاده جهت درمان اسهال

کانانی و همکارانش در مطالعه ای در سال ۲۰۰۷ مشاهده کردند که مصرف Lactobacillus rhamnosus GG می تواند تعداد دفعات اسهال در روز و نیز مدت زمان ابتلا به اسهال را در کودکان، نسبت به گروه کنترل، کاهش دهد. با توجه به تاثیر مثبت پروبیوتیک ها در درمان اسهال عفونی، احتمالاً این باکتری ها در پیشگیری از بروز اسهال عفونی نیز موثرند. البته در این زمینه نیاز به مطالعات بیشتری است (۵۹).

منابع:

30. Guandalini, Stefano, et al. "Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial." *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 30.1 (2000): 54-60.
31. Rolfe, Rial D. "The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health." *The Journal of nutrition* 130.2 (2000): 396S-402S.
32. Glenn, G. R., and M. B. Roberfroid. "Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics." *J. nutr* 125 (1995): 1401-1412.
33. Ohland, Christina L., and Wallace K. MacNaughton. "Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function." *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 298.6 (2010): G807-G819.
34. Hooper, Lora V., et al. "Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine." *Science* 291.5505 (2001): 881-884.
35. Conway, P. L., S. L. Gorbach, and B. R. Goldin. "Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells." *Journal of dairy science* 70.1 (1987): 1-12.
36. Mack, David R., et al. "Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression." *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 276.4 (1999): G941-G950.
37. Alakomi, H-L., et al. "Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane." *Applied and environmental microbiology* 66.5 (2000): 2001-2005.
38. Nielsen, Dennis S., et al. "The effect of bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* strains on the intracellular pH of sessile and planktonic *Listeria monocytogenes* single cells." *International journal of food microbiology* 141 (2010): S53-S59.
39. Hassan, M., et al. "Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance." *Journal of applied microbiology* 113.4 (2012): 723-736.
40. Dillon, Vivian M. "Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects." *International Journal of Food Science & Technology* 33.2 (1998): 195-196.
41. O'Shea, Eileen F., et al. "Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: bacteriocins and conjugated linoleic acid." *International journal of food microbiology* 152.3 (2012): 189-205.
42. Lee, K., et al. "Antiobesity effect of trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid-producing *Lactobacillus plantarum* PL62 on diet-induced obese mice." *Journal of applied microbiology* 103.4 (2007): 1140-1146.
43. Coloretti, Fabio, et al. "Antifungal activity of lactobacilli isolated from salami." *FEMS microbiology*

کوری و همکارانش در سال ۲۰۰۵ در یک آزمایش بالینی دو سو کور، نشان دادند که مصرف *Bifidobacterium lactis* و *Streptococcus thermophilus* در پیشگیری از اسهال ناشی از مصرف آنتی بیوتیک ها در نوزادان موثر است (۶۰).

Saccharomyces boulardii نیز به عنوان داروی موثر در درمان اسهال ناشی از آنتی بیوتیک ها در برخی از کشورها مورد استفاده قرار می گیرد.

هم چنین سویه های خاص *L.reuteri*، *L.acidophilus*، *E.coli* Nissle ۱۹۱۷ و *Enterococcus faecium* SF68، با توجه به استفاده ی دارویی از آن ها، چه به عنوان تک سویه و چه به عنوان مخلوطی از پروبیوتیک ها، بررسی شده اند. به استثناء مطالعات روی اسهال بیمارستانی و اسهال مرتبط با آنتی بیوتیک، نتایج حاصل از این مطالعات هنوز کافی نیست و مطالعات بیشتری مورد نیاز است (۶۱).

بحث و نتیجه گیری

پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های زنده ای هستند که امروزه به خاطر اثرات مفیدشان بر سلامت انسان اهمیت زیادی پیدا کرده اند. پروبیوتیک ها از طریق تعدیل فلور میکروبی روده بر سلامت دستگاه گوارش انسان موثرند. مطالعات بالینی زیادی در مورد اثر پروبیوتیک ها در پیشگیری و درمان بیماری های دستگاه گوارش تا به حال انجام گرفته است ولی این مطالعات هنوز در ابتدای راه بوده و برای تعیین کارایی، دوز موثر، مدت زمان لازم برای اثرگذاری و مکانیسم عمل گونه ها و سویه های مختلف پروبیوتیک ها، نیاز به مطالعات بیشتری می باشد (۶۲). در حال حاضر شواهد خوبی برای اثرات پروبیوتیک ها در درمان اسهال عفونی و اسهال ناشی از مصرف آنتی بیوتیک ها و عدم تحمل لاکتوز موجود است. علاوه بر پروبیوتیکها، پریبیوتیکهای مورد استفاده در مطالعات نیز نتایج متناقضی را روی فرکانس دفع و قوام مدفوع نشان دادهاند. البته در کل نمیتوان نادیده گرفت که مقادیر کم پریبیوتیک مورد استفاده در مطالعات، سبب افزایش در بهبودی علائم اسهال شده است. به عنوان یک پیشنهاد، مطالعات آینده میتواند حول این محور باشد. برآورد بدست آمده از این آزمایشات انجام شده نشان می دهد که مصرف پروبیوتیک ها در بیماران مبتلا به بیماری اسهال سبب بهبود علائم کلی گردیده است (۶۳).

Enteropathogen	Watery diarrhea	Bloody diarrhea
Viruses		
Rotavirus	+	—
Enteric adenovirus (types 40,41)	+	—
Caliciviruses	+	—
Astrovirus	+	—
Cytomegalovirus	+	+
Bacteria		
<i>V. cholerae</i> O1	+	—
<i>Vibrio</i> O139	+	—
Non-O1 <i>Vibrios</i>	+	—
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	+	+
<i>Aeromonas</i>	+	—
ETEC	+	—
EPEC	+	—
EaggEC	+	—
EIEC	+	+
EHEC (STEC)	+	+
<i>Shigella</i> spp.	+	+
<i>Salmonella</i> spp.	+	+
<i>Campylobacter</i> spp.	+	+
<i>Yersinia enterocolitica</i>	+	+
<i>Clostridium difficile</i>	+	+
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	+	+
Protozoa		
<i>Giardia intestinalis</i>	+	—
<i>Cryptosporidium parvum</i>	+	—
Microsporidia	+	—
<i>Isospora belli</i>	+	—
<i>Cyclospora cayentanensis</i>	+	—
<i>Entamoeba histolytica</i>	+	+
<i>Balantidium coli</i>	+	+

جدول ۱

degradation of N-acyl-L-homoserine lactones by *Bacillus cereus* var *toyoi*." XI International Symposium on Digestive Physiology of Pigs. 2009.

59. Canani, Roberto Berni, et al. "Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations." *Bmj* 335.7615 (2007): 340.

60. Corrêa, Naflesia BO, et al. "A randomized formula controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants." *Journal of clinical gastroenterology* 39.5 (2005): 385-389.

61. Homayouni Rad, A. "Therapeutic effects of functional Probiotic." *Prebiotic and Synbiotic foods*: 30-92.

62. Lilly, Daniel M., and Rosalie H. Stillwell. "Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms." *Science* 147.3659 (1965): 747-748.

63. Marteau, Philippe R., et al. "Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics." *The American journal of clinical nutrition* 73.2 (2001): 430s-436s.

letters 271.2 (2007): 245-250.

44. Lindgren, Sven E., and Walter J. Dobrogosz. "Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations." *FEMS microbiology reviews* 7.1-2 (1990): 149-163.

45. Oelschlaeger, Tobias A. "Mechanisms of probiotic actions—a review." *International Journal of Medical Microbiology* 300.1 (2010): 57-62.

46. Prema, P., et al. "Production and characterization of an antifungal compound (3-phenyllactic acid) produced by *Lactobacillus plantarum* strain." *Food and Bioprocess Technology* 3.3 (2010): 379-386.

47. Sjögren, Jörgen, et al. "Antifungal 3-hydroxy fatty acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14." *Applied and environmental microbiology* 69.12 (2003): 7554-7557.

48. Gómez-Llorente, Carolina, Sergio Munoz, and Angel Gil. "Role of Toll-like receptors in the development of immunotolerance mediated by probiotics." *Proceedings of the Nutrition Society* 69.03 (2010): 381-389.

49. Akbari, Omid, Rosemarie H. DeKruyff, and Dale T. Umetsu. "Pulmonary dendritic cells producing IL-10 mediate tolerance induced by respiratory exposure to antigen." *Nature immunology* 2.8 (2001): 725-731.

50. Stagg, A. J., et al. "The dendritic cell: its role in intestinal inflammation and relationship with gut bacteria." *Gut* 52.10 (2003): 1522-1529.

51. Hart, A. L., et al. "Modulation of human dendritic cell phenotype and function by probiotic bacteria." *Gut* 53.11 (2004): 1602-1609.

52. Kaila, Minna, et al. "Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain." *Pediatr Res* 32.2 (1992): 141-144.

53. Fang, He, et al. "Modulation of humoral immune response through probiotic intake." *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 29.1 (2000): 47-52.

54. Ogawa, T., et al. "Natural killer cell activities of synbiotic *Lactobacillus casei* ssp. *casei* in conjunction with dextran." *Clinical & Experimental Immunology* 143.1 (2006): 103-109.

55. Cella, Marina, et al. "A human natural killer cell subset provides an innate source of IL-22 for mucosal immunity." *Nature* 457.7230 (2009): 722-725.

56. Braat, Henri, et al. "Lactobacillus rhamnosus induces peripheral hyporesponsiveness in stimulated CD4+ T cells via modulation of dendritic cell function." *The American journal of clinical nutrition* 80.6 (2004): 1618-1625.

57. Medina-Martínez, Maria Stella, et al. "Degradation of N-acyl-L-homoserine lactones by *Bacillus cereus* in culture media and pork extract." *Applied and environmental microbiology* 73.7 (2007): 2329-2332.

58. Cerda-Cuellar, M., I. Badiola, and M. Castillo. "In vitro