اثر *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* برروی هماتوتوکسیسیتی القاشده توسط سرب در موش‌های صحرایی بالغ

فرحناز بیت‌اللهی[۱]، مهنوش فاطمی[۲*] و فرشته قندهاری [۱]

[۱] **اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، گروه میکروبیولوژی**

[۲] **اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، گروه زیست‌شناسی**

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۶ تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۲۴

چکیده

سرب یکی از سمی‌ترین فلزات سنگین برای سلامت انسان محسوب می‌شود. بنابراین محققان همواره برای حذف آن از محیط تلاش کرده‌اند. اخیراً ثابت‌شده است که پروبیوتیک‌ها بااتصال به فلزات سنگین، آنها را از محیط حذف می‌کنند. از اینرو در پژوهش حاضر، تأثیر حفاظتی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* برفاکتورهای هماتولوژیک رت‌های ماده آلوده با سرب بااحتمال حذف سرب از بدن مورد ارزیابی قرارگرفت. ۳۲ موش صحرایی ماده (۲۰ ± ۱۳۰ گرم) از انستیتوپاستور خریداری شد. حیوانات بطور تصادفی در ۴ گروه تقسیم‌بندی شدند. A: کنترل تزریقی، B: آلوده با سرب، C: تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و D: مواجهه با سرب و تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*. پس‌از اتمام دوره تیمار (۸ هفته)، پارامترهای خونی و غلظت پروتوپورفیرین روی در خون اندازه‌گیری شد. سطح پارامترهای خونی و غلظت پروتوپورفیرین روی در گروه D نسبت به B تغییراتی داشت ولی ازنظر آماری معنادار نبود. در گروه B تعداد گلبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها، پلاکت‌ها و غلظت پروتوپورفیرین روی افزایش معنی‌دار و تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، غلظت هوگلوبین و اندیکس های آن کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد در حالیکه تغییرات این فاکتورها در گروه D نسبت به گروه کنترل در سطح پایین‌تری بود. بنابراین احتمالاً *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* توانسته بااتصال به سرب و دفع آن از روده، مانع ورود غلظت زیاد آن به خون شده، اثرات مضر سرب بر فاکتورهای خونی را کاهش داده است.

واژه‌های کلیدی: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، فاکتورهای هماتولوژیک، فلزات سنگین

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۱۳۷۴۲۰۱۳۴، پست الکترونیکی: fatemi@iaufala.ac.ir

مقدمه

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اثرات مفیدی برسلامت میزبان دارند. این باکتری‌ها جزئی از فلور طبیعی دستگاه گوارش بوده و به‌عنوان ترکیبات بی‌خطر در طیف وسیعی از مواد خوراکی مورداستفاده قرار می‌گیرند (۱و ۲). *لاکتوباسیلوس*ها و *بیفیدوباکتر*ها دو خانواده‌ی مهم از پروبیوتیک‌ها هستند. مهمترین خصوصیات آنها مقاومت در برابر اسید معده، صفرا و آنزیم‌های گوارشی، توانایی آنها در اتصال به دیواره‌ی روده و بهبود هضم لاکتوز، جذب کلسیم، سنتز ویتامین‌ها، پروتئین‌ها و بهبود تعادل میکروبی روده، همچنین توانایی آنها در انتقال ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها و مقابله با عوامل بیماریزا، می‌باشند (۹). اخیراً پتانسیل اتصال این باکتری‌ها به فلزات سنگین و حذف آنها از محیط نیز موردتوجه واقع‌شده است. سطح باکتری‌های پروبیوتیک همچون سایر باکتری‌های گرم مثبت از یک‌لایه‌ی ضخیم پپتید و گلیکان، تیکوئیک اسید، پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها تشکیل‌شده است که حاوی

انواع مختلف گروه‌های منفی کربوکسیل، هیدروکسیل و فسفات می‌باشند و ظرفیت بالایی برای اتصال به یون‌های کاتیونی ازجمله سرب‌دارند. بنابراین محققان معتقدند که این باکتری‌ها می‌توانند گزینه‌ی مناسبی برای حذف بیولوژیک فلزات سنگین باشند (۲۵).

فلز سرب، عنصری پایدار، سمی و غیرضروری برای بدن است. منبع اصلی ورود آن به محیط‌زیست، فعالیت‌های انسانی می‌باشد زیرا کاربرد وسیعی در صنایع باطری‌سازی، صنایع رنگ‌سازی و برخی از سموم دفع آفات گیاهی دارد و مهمتر از همه در اثر سوخت ناقص بنزین در محیط پخش می‌شود (۱۶). این فلز قادر است از مسیر پوستی، استنشاقی و خوراکی وارد بدن شده و در بافت‌های مختلف تجمع یابد (۱۱). مطالعه برروی جانداران دریایی تجمع سرب و سایر فلزات سنگین را در بافتهای نرم بدن آنها تأیید کرده است (۳و ۴). بنابراین ضرورت دارد در زمینه‌ی حذف این آلاینده‌ها از بدن مطالعاتی انجام شود. ازاین‌رو در تحقیق حاضر با فرض براینکه مکانیسم حذف سرب از بدن مشابه حذف آن از محیط باشد، تأثیر حفاظتی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به‌عنوان یکی از باکتری‌های پروبیوتیک برفاکتورهای هماتولوژیک در رت‌های آلوده با سرب مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روشها

روش کشت و تهیه‌ی سوسپانسیون میکروبی: سوش باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (ATCC 7469) از بانک میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد و در ۱ سی‌سی آب مقطر استریل تلقیح و پس از انتقال در محیط کشت MRS Broth به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. سپس از نمونه‌ی کشت میکروبی مایع، سوسپانسیونی تهیه نموده و کدورت به‌صورت چشمی با استاندارد نیم مک فارلند مقایسه گردید. همچنین جذب نوری سوسپانسیون با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۶۳۰ نانومتر بین ۰/۱ – ۰/۰۸ تنظیم گردید. این کدورت معادل $1/5 \times 10^{8}$ CFU/ml باکتری است.

گروه‌بندی و تیمار حیوانات: ۳۲ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰ ± ۱۳۰ گرم از انستیتو پاستور خریداری و در قفس‌های مجهز به آب و غذای کافی به مدت یک هفته جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند. در طول مدت آزمون دمای محیط ۲ ± ۲۳ درجه سانتیگراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و طول مدت نور و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت برای جانوران فراهم شد. حیوانات به‌طور تصادفی به ۴ گروه هشت‌تایی تقسیم شدند. رت‌های گروه کنترل تزریقی به مدت ۸ هفته تنها با آب و غذا تیمار شدند و دراین مدت روزانه ۱ سی‌سی آب دی یونیزه به روش گاواژ دریافت کردند. رت-های گروه آلوده با سرب، روزانه ۴۰۰ mg/kg استات سرب به روش درون گوارشی دریافت کردند. رت‌های گروه تیمار با باکتری، روزانه میزان $1/5 \times 10^{8}$ CFU/ml از سوسپانسیون میکروبی به روش درون گوارشی دریافت کردند و گروه رت‌های آلوده با سرب تیمار با باکتری، روزانه ۴۰۰ mg/kg استات سرب و $1/5 \times 10^{8}$ CFU /ml باکتری به روش درون گوارشی دریافت کردند. پس‌از اتمام دوره‌ی تیمار در پایان هفته‌ی هشتم، رت‌ها بیهوش شده و پس از توزین، خونگیری مستقیماً از قلب آنها انجام شد. خون‌ها به لوله‌های محتوی ماده‌ی ضد انعقاد به‌منظور ارزیابی تعداد سلول‌ها و اندیکس‌های خونی و ارزیابی فاکتور ZPP انتقال یافت. همچنین به‌منظور ارزیابی تعداد کلنی در مدفوع، از نمونه‌ی تازه‌ی مدفوع هر گروه از رت-ها برداشته و در پیتون هموژنیزه شد. سپس به مدت ۱ دقیقه ورتکس و به مدت ۵ دقیقه در دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شد و در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر از مایع رویی آن برداشته و در محیط MRS Agar کشت شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه تعداد کلنی‌ها در محیط شمارش شد.

آنالیز آماری: کل داده‌ها در این پژوهش به‌صورت میانگین ± انحراف معیار محاسبه و از آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) برای آنالیز اختلاف بین گروه‌های آزمایشی استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام گرفت و سطح معنی‌داری P≤ ۰٫۰۵، P≤ ۰٫۰۱ P≤ ۰٫۰۰۱ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی شمارش سلول‌های خونی: باتوجه به جدول ۱، در مقایسه پارامترهای خونی گروه آلوده با سرب نسبت به گروه کنترل و گروه تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، تعداد گلبولهای سفید و لنفوسیت‌ها بطور کاملاً معنی‌داری (P≤ ۰٫۰۰۱) کمتر و برعکس تعداد گلبولهای قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت بطور معنی‌داری به ترتیب باP≤ ۰٫۰۰۱، P≤۰٫۰۱ وP≤ ۰٫۰۵ بیشتر از گروه آلوده با سرب می‌باشد. تعداد پلاکت‌ها، MCH و MCHC در گروه کنترل به ترتیب باP≤ ۰٫۰۱، P≤ ۰٫۰۱و P≤ ۰٫۰۰۱ و همین سه فاکتور در گروه تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به‌ترتیب در سطوح P≤۰٫۰۵ ، P≤۰٫۰۵ و P≤۰٫۰۱ بیشتر از گروه آلوده با سرب می‌باشد. این درحالی است که باوجود کاهش تعداد گلبولهای سفید و لنفوسیت‌ها و افزایش تعداد پلاکتها، گلبول‌های قرمز و اندیکسهای آن در گروه آلوده با سرب تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت به گروه آلوده باسرب، ولی این تغییرات ازلحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد.

جدول ۱- نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای هماتولوژیک.

	پارامترهای خونی								
گروه‌ها	WBC (10^3/µl)	Lyn (10^3/µl)	PLT (10^3/µl)	RBC (10^5/µl)	HGB (g/dl)	HCT (%)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	MCV (fl)
A	۶/۸±۰/۸۳ ooo	72/۴۳±۱۴/۲۱ ooo	816/۸۳±۱۸۵/۲ oo	6/۵۷±۰/۳۵ ooo	13/۰۵±۰/۷۱ oo	38/۳۳±۲/۰۸ o	۱۹/۸۱±۰/۷ oo	34/۰۶±۰/۳۸ ooo	55/۴۶±۱/۵۷
B	۱۰/۲۶±۱/۶۳***	۱۰۰±۴/۰۹***	۵۱۷±۹۹/۶۸***	۴/۹±۰/۷۶***	۱۱/۵۷±۰/۴۹**	۳۴/۲۶±۲/۲۸*	۱۸±۰/۶۶**	۳۲/۵±۰/۶۸**	۵۷/۸۵±۱/۶۳
C	۶/۵۳±۰/۸۷ ooo	۷۲/۵۱±۷/۶ ooo	742/۵±۱۱۲/۹۴ o	۶/۸۷±۰/۴۴ ooo	۱۳/۰۲±۰/۷۷ oo	۳۸/۲۳±۲/۴۴ o	19/۴۵±۰/۷۶ o	33/۸۶±۰/۵ oo	۵۵/۵±۱/۸
D	۹/۵±۰/۸۲**	۸۹/۶۳±۶/۶۱*	۵۷۱/۵±۱۱۶*	۵/۴۶±۰/۷۱*	۱۱/۸۵±۰/۳۸*	۳۷/۵۲±۱/۶۲	۱۸/۳۸±۱/۰۴*	۳۲/۹±۰/۷۵*	۵۶/۵±۱/۷۳

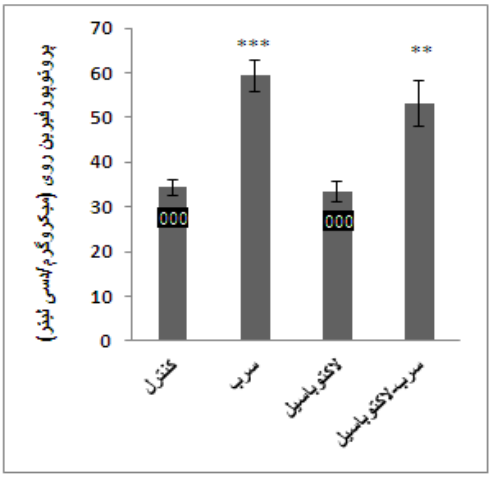
داده‌ها به شکل mean ± SD محاسبه‌شده است و سطح معنی‌داری به‌صورت (P≤ ۰٫۰۵) *، (P≤ ۰٫۰۱) **و (P≤ ۰٫۰۰۱) *** در نظر گرفته‌شده است. علامت (*) سطح معنی‌داری گروههای آزمایشی نسبت به گروه کنترل و علامت (°) سطح معنی‌داری گروههای آزمایشی نسبت به گروه آلوده با سرب را نشان می‌دهد. گروه کنترل (A)، گروه آلوده با سرب (B)، گروه تیمار با*لاکتوباسیلوس رامنوسوس*(C)، گروه آلوده با سرب و تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*(D)

در مقایسه پارامترهای خونی در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌داری در تعداد WBC در رت-های گروه آلوده با سرب و گروه آلوده با سرب که با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تیمار شده بودند به ترتیب در سطحP≤ ۰٫۰۰۱ و P≤ ۰٫۰۱ نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود. درحالی‌که باوجود افزایش مختصر در تعداد WBC در گروه رت‌های تیمار شده با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت به رت‌های گروه کنترل، این افزایش ازنظر آماری معنی‌دار نیست. علاوه بر WBC، افزایش کاملاً معنی‌داری در تعداد لنفوسیت‌ها نیز در رت‌های گروه آلوده باسرب و گروه آلوده باسرب تیمار شده با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، نسبت به گروه کنترل مشاهده می‌شود که به ترتیب در سطح P≤۰٫۰۰۱و P≤۰٫۰۵ معنی‌دار است. اما تفاوت معنی‌داری در تعداد لنفوسیت‌های رت-

های گروه تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت به گروه کنترل مشاهده نمی‌شود.

تعداد پلاکت‌ها در گروه آلوده باسرب و گروه آلوده باسرب تیمار شده با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به‌ترتیب در سطح P≤ ۰٫۰۱ و P≤ ۰٫۰۵ کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد در حالیکه در تعداد این سلول‌ها در گروه تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده نمی‌شود. تعداد RBC (P≤۰٫۰۰۱)، درصد هماتوکریت (P≤۰٫۰۱)، غلظت هموگلوبین (P≤۰٫۰۱) و اندیکس های MCH و MCHC (P≤۰٫۰۱) در رت‌های گروه آلوده باسرب، همچنان که در جدول مشاهده می‌شود کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد. در گروه رت‌های آلوده باسرب که با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تیمار شده بودند تغییر در پارامترهای خونی در مقایسه باگروه کنترل مشابه با تغییرات حاصله در گروه آلوده باسرب می‌باشد بااین تفاوت که ازلحاظ آماری این تغییرات به‌شدت گروه آلوده باسرب نیست بطوری که افزایش تعداد گلبولهای سفید و لنفوسیت‌ها به ترتیب در سطح P≤ ۰٫۰۱و P≤ ۰٫۰۵ و کاهش سایر فاکتورها در سطح P≤ ۰٫۰۵ می‌باشد. تفاوت معنی‌داری در، درصد هماتوکریت دراین گروه نسبت به گروه کنترل مشاهده نمی‌شود. هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری در سطح این فاکتورها در گروه تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت به گروه کنترل مشاهده نمی‌شود. MCV، برخلاف تعداد RBC و اندیکس‌های آن افزایش مختصری در گروه‌های آلوده باسرب و آلوده با سرب تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نشان می‌دهد که البته افزایش آن نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نیست.

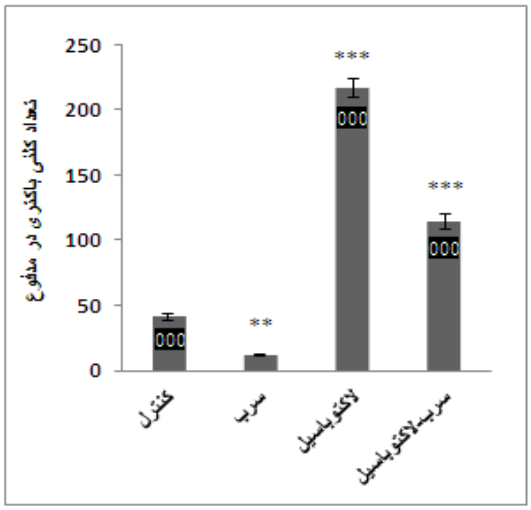
نتایج حاصل از بررسی غلظت ZPP در گروه‌های آزمایشی: باتوجه به نمودار ۱، غلظت ZPP در رت-های گروه آلوده باسرب که با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تیمار شده بودند نسبت به گروه آلوده باسرب، کاهش نشان می‌دهد که البته این کاهش ازنظر آماری معنی‌دار نیست. سطح این فاکتور در دو گروه کنترل و تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بطور کاملاً معنی‌داری (P≤۰٫۰۰۱)، کمتر از گروه آلوده با سرب می‌باشد. غلظت ZPP در گروه رت‌های آلوده باسرب و آلوده باسرب تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت به گروه کنترل افزایش چشمگیری نشان می‌دهد ولی این افزایش در گروه آلوده باسرب بیشتر است به‌طوری‌که این افزایش در سطح ۰٫۰۰۱ P≤ معنی‌دار است ولی این مقدار در رت‌های گروه آلوده با سرب تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت به گروه کنترل، در سطح P≤ ۰٫۰۱ معنی‌دار است. تفاوت معنی داری بین این فاکتور در دو گروه کنترل و گروه تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* مشاهده نمی‌شود.



نمودار ۱- مقایسه‌ی غلظت ZPP بین گروه‌های آزمایشی. داده‌ها به شکل mean ± SD محاسبه‌شده است و سطح معنی‌داری به‌صورت (P≤ ۰٫۰۵) * (P≤ ۰٫۰۱)** و(P≤ ۰٫۰۰۱)*** در نظر گرفته‌شده است. علامت (*) سطح معنی‌داری گروههای آزمایشی نسبت به گروه کنترل و علامت (۰) سطح معنی‌داری گروههای آزمایشی نسبت به گروه آلوده با سرب را نشان می‌دهد.

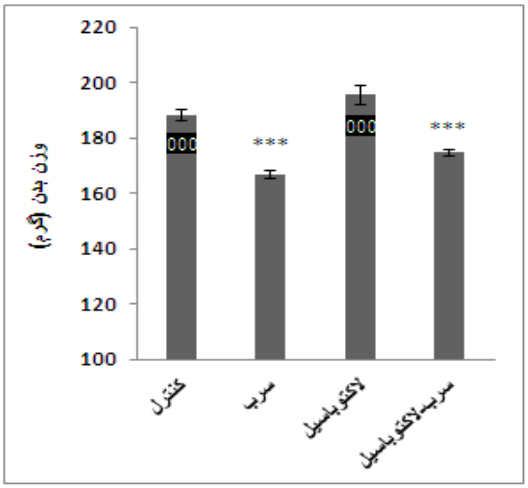
نتایج حاصل از شمارش تعداد کلنی‌های *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در مدفوع: باتوجه به نمودار ۲، میانگین تعداد کلنی‌های رشد یافته *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در مدفوع گروه‌های کنترل، تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و آلوده

با سرب تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بطور معنی‌داری (P≤۰,۰۰۱)، نسبت به گروه آلوده با سرب بیشتر است. میانگین تعداد کلنی‌های رشد یافته در دو گروه رت های تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و آلوده با سرب و تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد به‌طوری‌که این افزایش در سطح P≤ ۰,۰۰۱ معنی‌دار است درحالی‌که تعداد کلنی‌ها در رت های گروه آلوده با سرب نسبت به گروه کنترل، کاهش شدیدی داشت به‌طوری‌که این کاهش در سطح P≤ ۰,۰۱ معنی‌دار است.



نمودار ۲- بررسی مقایسه‌ای تعداد کلنی‌های *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در نمونه‌ی مدفوع، بین گروه‌های آزمایشی. داده‌ها به شکل mean ± SD محاسبه‌شده است و سطح معنی‌داری به‌صورت (P≤ ۰,۰۵) * (P≤ ۰,۰۱)** و(P≤ ۰,۰۰۱)***در نظر گرفته‌شده است. علامت (*) سطح معنی‌داری گروههای آزمایشی نسبت به گروه کنترل و علامت (۰) سطح معنی‌داری گروههای آزمایشی نسبت به گروه آلوده با سرب را نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از بررسی میانگین وزن بدن رت های نژاد ویستار: باتوجه به نمودار ۳، میانگین وزن بدن در رتهای گروه کنترل و گروه تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بطور معنی‌داری (P≤۰,۰۰۱) بیشتر از گروه آلوده باسرب است ولی افزایش وزن گروه آلوده با سرب تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت به گروه آلوده با سرب معنی‌دار نمی‌باشد. میانگین وزن بدن در دو گروه رت‌های آلوده باسرب و آلوده باسرب تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت به گروه کنترل کاهش زیادی نشان می‌دهد که این کاهش در رت‌های آلوده با سرب در سطح P≤ ۰,۰۰۱ و در رت‌های آلوده با سرب تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در سطح P≤ ۰,۰۱ معنی‌دار است. تفاوت معنی‌داری بین وزن گروه‌های تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت به گروه کنترل مشاهده نمی‌شود.



نمودار ۳- بررسی مقایسه‌ای میانگین وزن کلی بدن رت ها در بین گروه‌های آزمایشی. داده‌ها به شکل mean ± SD محاسبه‌شده است و سطح معنی‌داری به‌صورت (P≤ ۰,۰۵) *، (P≤ ۰,۰۱) **و (P≤ ۰,۰۰۱) ***در نظر گرفته‌شده است. علامت (*) سطح معنی‌داری گروههای آزمایشی نسبت به گروه کنترل و علامت (۰) سطح معنی‌داری گروههای آزمایشی نسبت به گروه آلوده با سرب را نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

درتحقیق حاضر به‌منظور ارزیابی احتمال تأثیر حفاظتی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* برپارامترهای خونی به دنبال آلودگی با سرب، ابتدا نتایج حاصل از تأثیر سرب بر پارامترهای خونی بررسی شد و افزایش قابل‌ملاحظه‌ای در تعداد گلبول‌های سفید و همچنین لنفوسیت‌ها مشاهده شد. مطالعات زیادی نشان دادند که تحت تأثیر سرب،

سلول‌های ایمنی افزایش می‌یابند. برای مثال دونگری و همکاران در سال ۲۰۱۱ افزایش در تعداد گلبول‌های سفید را پس‌از اندازه‌گیری شاخص‌های خونی در کارگران کارخانه‌ی خودروسازی مشاهده کردند (۱۰). همچنین موگاهی و همکاران در سال ۲۰۰۳ پس از ایجاد مسمومیت باسرب در موش‌های بالغ نر، لکوسیتوزیس را به دلیل افزایش در تعداد لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها گزارش کردند (۱۸).

مطالعات نشان داده است علت افزایش گلبول‌های سفید دراثر استرس‌های محیطی، اختلال در عملکرد اندام‌های مختلف ازجمله کلیه و طحال و به دنبال آن التهاب و عفونت است (۲۰). ازاین‌رو به نظر می‌رسد در تحقیق ما نیز سرب باالقاء التهاب، باعث تحریک سیستم ایمنی و درنتیجه افزایش تعداد گلبول‌های سفید بویژه لنفوسیت‌ها در خون شده است. در رت‌هایی که تنها با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تیمار شده بودند، تغییر معنی‌داری در تعداد سلول‌های ایمنی نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد که می‌تواند مؤید ایمن بودن باکتری برای بدن باشد زیرا این باکتری جزو فلور طبیعی روده می‌باشد. در رت‌های گروه آلوده باسرب که بااین باکتری تیمار شده بودند افزایش سطح لنفوسیت‌ها و گلبول‌های سفید کاملاً مشهود و قابل‌مقایسه با رتهای آلوده با سرب بود و تنها کاهش مختصری مشاهده شد که البته ازنظر آماری معنی‌دار نبود. بنابراین در نگاه اول بنظر می‌رسید که *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تأثیر مثبتی بر تعداد گلبولهای سفید و لنفوسیت‌ها بدنبال مسمومیت با سرب ندارد اما بامقایسه تعداد این سلول‌ها در گروه آلوده باسرب و گروه آلوده باسرب تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌داری در تعداد این سلول‌ها در هردو گروه نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ولی باتوجه به جدول ۱، این افزایش در رتهای تیمار شده با باکتری در سطح پایین‌تری ($P\leq۰,۰۵$) نسبت به گروه آلوده باسرب ($P\leq۰,۰۰۱$) بود. بنابراین به نظر می‌رسد *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* هرچند نتوانسته کاملاً مؤثر عمل کند اما تا حدودی توانسته اثرات سوء سرب برسلول‌های ایمنی را متعادل‌تر کند.

یکی از مهمترین ویژگی‌های پروبیوتیک‌ها تقویت سیستم ایمنی (۲۴) می‌باشد. به‌نظر می‌رسد حضور آنها در بدن باعث تحمیل یک پیش‌آگاهی به بدن شده و سیستم ایمنی را در حالت آماده‌باش قرارداده است و بنابراین به‌محض ورود سرب در بدن از تحریک شدید سیستم ایمنی ممانعت کرده است. از طرف دیگر مهمترین مکانیسم توکسیسیتی فلزات سنگین در بدن القاء استرس اکسیداتیو است (۲۱). باتوجه به‌این‌که پروبیوتیک‌ها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند (۱)، احتمال می‌رود حضور *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در بدن مانع افزایش بیش‌ازحد رادیکال‌های فعال اکسیژن تحت اثر سرب در بدن شده و بنابراین مانع افزایش التهاب شده است. در تحقیق حاضر تعداد پلاکت‌ها در گروه آلوده باسرب کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد. تحقیقی بر روی ۴۲۹ کارگر مرد در کارخانه‌ی باتری‌سازی، کاهش معنی‌داری در تعداد پلاکت و افزایش سطح سرب خون مشاهده شد (۷). در تناقض با این نتایج، حمید و همکارانش در سال ۲۰۱۰ افزایش پلاکت‌ها را پس از خوراندن استات سرب به رت های نر بالغ مشاهده کردند (۱۴). مکانیسم دقیق عمل سرب برتعداد پلاکت‌ها هنوز شناسایی نشده است. گروهی معتقدند سرب باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و افزایش ROS (گونه‌های اکسیژن فعال) در پلاکت‌ها شده و منجر به تخریب آنها می‌شود (۸). اختلال عملکرد سیستم انعقادی تحت اثر آسیب سرب بر اندوتلیال عروق را نیز عامل دیگری برای کاهش پلاکت‌ها در اثر سرب می‌دانند (۷). در تحقیق حاضر تیز کاهش تعداد پلاکت‌ها را می‌توان به دلایل مذکور نسبت داد. تعداد پلاکت‌ها در گروه رت-هایی که با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تیمار شده بودند تفاوت معنی‌داری باگروه کنترل نشان نداد که بیانگر عدم توکسیسیتی این باکتری بر فاکتورهای خونی می‌باشد. در

رتهایی که در مواجهه با سرب بوده و با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تیمار شده بودند نیز مشابه با گروه آلوده باسرب تعداد پلاکتها کاهش‌یافته بود اما وقتی این دو گروه با گروه کنترل مقایسه شدند مشخص شد که کاهش تعداد پلاکت‌ها از سطح نرمال در گره آلوده باسرب بسیار بیشتر (P≤۰,۰۰۱) از گروه تیمار شده با باکتری (P≤۰,۰۵) می‌باشد. پس به نظر می‌رسد *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تا حدودی اثر منفی سرب بر پلاکت‌ها را کاهش داده باشد. شاید بتوان علت آن را بطور غیرمستقیم به دلیل اثر *لاکتوباسیلوس*ها برکاهش کلسترول و چربی خون دانست. زیرا تحقیقات نشان داده است سرب بر بافت کبد اثر گذاشته باعث اختلال بر مسیر بیوسنتز چربی‌ها بویژه کلسترول شده و منجربه افزایش سطح کلسترول در خون می‌شود. همین امر باعث رسوب کلسترول در دیواره‌ی عروق و چسبیدن پلاکت‌ها به همدیگر و به دیواره‌ی عروق می‌شود (۲۳). باتوجه به این‌که ثابت‌شده است پروبیوتیک‌ها عملکرد کبد را بهبود می‌بخشند و مانع افزایش چربی‌ها در خون می‌شوند (۲۶)، به نظر می‌رسد جلوگیری از رسوب چربی در عروق توسط *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* مانع بهم چسبیدن و رسوب آنها شده و از کاهش پلاکت تحت اثر سرب ممانعت کرده است.

در پژوهش حاضر، تعداد گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین، درصد هماتوکریت و اندیکس‌های MCH و MCHC در رت های آلوده با سرب، کاهش مشخصی نشان داد. در تأیید این نتایج در مطالعه‌ی گلالی‌پور و همکارانش در سال ۲۰۰۷ کاهش قابل‌توجهی در سطح هماتوکریت در موش و انسان با سطح بالای سرب خون مشاهده شد (۱۲). دونگری و همکاران پیشنهاد دادند که مواجهه با غلظت بالای سرب می‌تواند منجر به کاهش رتیکولوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها در خون شود که این به‌نوبه‌ی خود باعث کاهش درصد هماتوکریت می‌شود (۱۰). یکی از مهمترین علائم خونی مرتبط با مسمومیت باسرب ایجاد آنمی است، سرب با تخریب گلبول‌های قرمز و همچنین ایجاد اختلال در کبد و کلیه، مانع ترشح اریتروپویتین از سلول‌های ویژه‌ی این اندام‌ها شده و بدین ترتیب باعث کاهش تعداد این سلول‌ها در خون می‌شود (۱۵). در تحقیق حاضر نیز کاهش RBC مؤید اثر سوء سرب براین سلول‌ها می‌باشد. از سوی دیگر کاهش درصد هماتوکریت و هموگلوبین را نیز می‌توان با کاهش تعداد RBC ارتباط داد. علاوه براین تحقیقات نشان داد که سرب می‌تواند بر مسیر بیوسنتز هموگلوبین اثر گذاشته با مهار فعالیت‌های آنزیم‌های حیاتی این مسیر یعنی دلتا آمینولولینات دهیدروژناز و فروکلاتاز (۲۷) موجب اختلال در سنتز هموگلوبین شده باشد. کاهش هموگلوبین و هماتوکریت نیز می‌تواند توجیهی برای کاهش MCH و MCHC باشد. سطح MCV در بین گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد که می‌تواند نشانگر عدم تأثیر سرب و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در میانگین حجم گلبول‌ها باشد. تعداد RBC، MCV، هماتوکریت، هموگلوبین و اندیکس‌های خونی در رت‌های گروه تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان نداد. ازاین‌رو می‌توان تأکید کرد که پروبیوتیک‌ها اثر سوئی بر بدن ندارند. همچنان که میرزایی و همکاران در سال ۲۰۰۸ با بررسی تأثیر *لاکتوباسیلوس کازئی* در رژیم غذایی موش، هیچ‌گونه تغییری در سطح این فاکتورها مشاهده نکردند (۱۷).

تعداد گلبول‌های قرمز و اندیکس‌های آن در رت‌های گروه آلوده با سرب که با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تیمار شده بودند نسبت به گروه آلوده با سرب تفاوت معنی‌داری نشان نداد اما همانند تعداد گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها پس از مقایسه این دو گروه با گروه کنترل مشخص شد که سطح تغییرات این فاکتورها پس از تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* شدت کمتری نسبت به رت‌های آلوده با سرب در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد. بنابراین به نظر می‌رسد *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* توانسته اثرات سوء

سرب براین فاکتورها را تا حدودی متعادل‌تر کند که البته درزمینهٔ ی مکانیسم عملکرد آن تحقیقات زیادی لازم است انجام شود. درمجموع ما تصور می‌کنیم که *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* با ممانعت از جذب روده‌ای سرب مانع از تجمع آن در خون و بدنبال آن مانع از اثر آن بر پارامترهای خونی شده است.

به‌دنبال مشاهده اختلالات ایجادشده در فاکتورهای خونی به‌ویژه فاکتورهای مرتبط به گلبول‌های قرمز خصوصاً کاهش هموگلوبین تحت تأثیر سرب، این فرضیه مطرح شد که احتمالاً سرب از سیستم گوارشی مستقیماً به خون وارد شده و موجب ایجاد چنین مشکلاتی شده است. بنابراین برای اطمینان از حضور سرب در خون، غلظت ZPP اندازه‌گیری شد. در پژوهش حاضر، غلظت ZPP در دو گروه رت‌های آلوده با سرب و آلوده با سرب تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت به هم تفاوت معنی‌داری نشان نداد ولی در هر دو گروه سطح این فاکتور نسبت به گروه کنترل افزایش چشمگیری نشان داد. باتوجه به این‌که افزایش پروتوپورفیرین خون نشانگر تأثیر سرب بر مهار مسیر بیوسنتز "هم" و کم‌خونی ناشی از فقر آهن به دنبال مسمومیت با سرب است (۲۲)، افزایش ZPP در خون رت‌های آلوده باسرب و آلوده باسرب تیمار با باکتری، این فرضیه را تأیید می‌کند که سرب از پوشش روده گذشته و به گردش خون نفوذ کرده است و اثرات منفی آن بر هموگلوبین و هماتوکریت و اندیکس‌های خونی نیز احتمالاً به دلیل حضور مستقیم آن در خون است. ولی ازآنجایی‌که افزایش غلظت ZPP در گروه مسموم تیمار شده با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در سطح پایین‌تری ($P\leq۰,۰۱$) از گروه آلوده باسرب ($P\leq۰,۰۰۱$)، در مقایسه این دو گروه با گروه کنترل می‌باشد، به نظر می‌رسد مقداری از سرب موجود در روده توسط این باکتری جذب‌شده و از طریق مدفوع دفع شده است و به‌تبع ورود کمتر آن به خون، مانع افزایش بیش‌ازحد ZPP در خون این گروه شده است. هالتونن و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که دو گونه‌ی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* و *بیفیدوباکتریوم لانگوم* در محیط آزمایشگاهی در کنار دیگر عوامل محیطی به‌ویژه حضور کاتیون‌های فلزی ازجمله روی، منیزیم، کلسیم و آهن بطور رقابتی به کادمیوم و سرب اتصال می‌یابند (۱۳). ازاین‌رو احتمال می‌رود *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* با مکانیسمی مشابه با *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* و *بیفیدوباکتریوم لانگوم* مقداری از سرب را از سیستم گوارش حذف کرده باشد.

دراین تحقیق وزن بدن در حیوانات آلوده‌شده باسرب به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. کاهش وزن بدن به دنبال مسمومیت با استات سرب در مطالعه‌ی رافیق و همکاران در سال ۲۰۰۸ (۱۹) نیز مشاهده شد. احتمالاً کاهش وزن به دلیل بی‌اشتهایی جانوران به‌ویژه به دلیل کم‌خونی ناشی از سرب می‌باشد. وزن بدن رت‌های گروه آلوده باسرب تیمار با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نیز همچون گروه آلوده باسرب کاهش نشان داد. پس احتمالاً *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نقشی در کاهش وزن بدن ناشی از سرب ایفا نکرده است. این نتیجه متناقض با عملکرد پروبیوتیک ها است زیرا به‌خوبی مشخص‌شده است که پروبیوتیک ها با افزایش سطح پرزهای روده به افزایش جذب مواد غذایی کمک می‌کنند. بنابراین عدم تأثیر *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بروزن حیوانات حتی زمانی که به‌تنهایی تیمار شده بود را می‌توان به کوتاه بودن طول مدت تیمار نسبت داد. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۸ بر روی گونه‌ای از ماهی *تیلاپیا* با وزن طبیعی انجام شد نیز مصرف برخی از سویه‌های پروبیوتیک ازجمله *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدیوم* تأثیری بر روی وزن آنها نشان نداد (۶).

در ادامه‌ی تحقیق حاضر تعداد کلنی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در مدفوع گروه‌های آزمایشی ارزیابی شد. حضور کلنی در مدفوع رت‌های گروه کنترل نمایانگر آن است که این باکتری جزء فلور طبیعی روده‌ی رت‌ها

می‌باشد و کاهش شدید تعداد کلنی‌ها در مدفوع رت‌های آلوده با سرب بیانگر آن است که سرب احتمالاً باعث مرگ این باکتری‌ها شده است. یکی از اعمال مهم پروبیوتیک‌ها حفاظت از پرزهای روده و در درازمدت گسترش بیشتر این پرزها و بدنبال آن کمک به جذب املاح معدنی ضروری از سطح این پرزها می‌باشد (۵). از اینرو به نظر می‌رسد سرب احتمالاً بااتصال به این باکتری‌ها باعث مرگ آنها شده و اثر حفاظتی آنها بر سطح روده را کاهش داده است و باتوجه به افزایش ZPP در خون احتمالاً توانسته به‌راحتی از سد روده‌ای گذشته و به خون راه یابد. در گروه رت‌های آلوده با سرب که با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تیمار شده بودند تعداد کلنی‌های باکتری در مدفوع بطور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد. این افزایش نشانگر آن است که افزودن *لاکتوباسیلوس* اضافی به رژیم غذایی جانور توانسته تعداد *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* موجود در روده را که توسط سرب کاهش‌یافته بود، جبران کند. از طرف دیگر مطالعات نشان داده است که فلزات سنگین بویژه فلزات کاتیونیک تمایل دارند به سطح دیواره‌ی پروبیوتیک‌ها بابار منفی اتصال یابند (۱۳). از اینرو شاید در تحقیق حاضر، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* باسرب موجود در روده باند شده و باوجودی که این اتصال منجر به مرگ آنها شده است، باعث حذف سرب از بدن نیز شده باشد که این فرض با مشاهده کاهش اختلالات در فاکتورهای خونی تحت تأثیر حضور این باکتری در رت-های آلوده با سرب قوت می‌گیرد و ضرورت دارد در مطالعات بعدی میزان سرب در مدفوع گروه‌های آزمایشی نیز باهم مقایسه شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش حاکی ازآن است که سرب مصرف‌شده در این آزمون باعث ایجاد اختلال در فاکتورهای هماتولوژیک و وزن بدن شده و با مشاهده افزایش ZPP در خون می‌توان دلیل آن را حضور مستقیم این عنصر در خون دانست. اما تعدیل نتایج بدست آمده در گروه آلوده با سرب که با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تیمار شده بودند نشان می‌دهد که این باکتری احتمالاً در سیستم گوارشی به سرب اتصال یافته و با مکانیسمی مشابه حذف سرب از محیط خاکی و آبی، پتانسیل حذف سرب از بدن را داشته است و بدین ترتیب تا حدودی به بهبود علائم منفی ناشی از حضور سرب کمک کرده است و شاید اگر حیوانات مدت بیشتری تحت پیش تیمار و تیمار این باکتری قرارداده می‌شدند، نتایج مربوط به گروه مسموم تیمار شده با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به سطح گروه کنترل نزدیکتر می‌شد. بنابراین برای تأیید این نتایج به آزمایشات تکمیلی زیادی نیاز است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله کمال تشکر را از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، به‌منظور فراهم کردن کلیه‌ی شرایط لازم جهت انجام این پروژه دارند.

منابع

۱- پورامینی، م.، و حسینی فر، س. ح.، ۱۳۸۶. کاربرد پروبیوتیکها و پریبیوتیکها در آبزی‌پروری، تهـران، انتشارات موج سبز.

۲- وجدانی، ر.، و زالی، م. ر.، ۱۳۸۲. پروبیوتیک‌ها و مکانیسم اثر آنها در پیشگیری و درمان بیماریهای انسان، مجله پژوهشی دانشکده پزشکی، دوره۲۷، شماره ۴، صفحات۳۱۹ – ۳۳۰.

۳- حسینی، م.، نبوی، س. م. ب.، گلشنی، ر.، نبوی، س. ن.، و رئیسی سرآسیاب، ع.، ۱۳۹۴. آلودگی فلزات سنگین (نیکل، مس، سرب، کبالت و کادمیوم) در رسوب و بافت‌های کبد و ماهیچه کفشک ماهی *Psettodes erumei* در استان بوشهر، خلیج‌فارس، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، دوره ۲۸، شماره ۴، صفحات ۴۴۱-۴۴۹.

۴- محمودیان بوشهری، ع.، صفاهیه، ع. ر.، نیکچور قنواتی، ی.، رونق، م. ت.، و سالاری علی‌آبادی، م.ع.، ۱۳۹۴. سنجش غلظت فلزات سنگین روی، مس، کادمیم و سرب در نرم‌تن کیتون پوست‌ماری

(*Chiton lamyi*, Dupuis, 1918) و رسوبات سطحی مناطق بین جزرومدی استان بوشهر، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، دوره ۲۸، شماره ۲، صفحات ۲۱۰-۲۲۲.

5-Afify, A. M., Romeilah, R. M., Sultan, S. H. I. M., and Hussein, M. M., 2012, Antioxidant activity and biological evaluations of probiotic bacteria strains, International Journal of Academic Research Part A, 4(6), PP: 131-139.

6-Aly, S. M., Abdel-Galil, A. Y., Ghareeb, A., and Mohamed, M. F., 2008, Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, aspotential probiotics on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromic niloticus*) to challenge infections, Fish Shell Fish Immunology, 25, PP: 128-136.

7-Barman, T., Kalahasthi, R., and Ragmohan, H. R., 2014, Effects of lead exposure on the status of platelet indices in workers involved in a lead-acid battery manufacturing plant, Journal of Exposure Sciences and Environmental Epidemology, 24, PP: 629-633.

8-Borges,V. C., Santos, F. W., Rocha, J. B. T., and Nogueira, C. W., 2007, Heavy metals Modulate Glatematergic system in human platelets, 32(6), PP: 953-958.

9-Bottazzi, V., 1983. Food and feed production with microorganisms, Biotechnology, 5, PP: 315-63.

10-Dongre, N. N., Suryakar, A. N., Patil, A. J., and Rathi, D. B., 2011. Biochemical Effects of Lead Exposure on Systolic & Diastolic Blood Pressure, Heme Biosynthesis and Hematological Parameters in Automobile Workers of North Karnataka (India), Indian Journal of Clinical Biochemistry, 26(4), PP: 400-406.

11-Duruibe, J. O., Ogwuegbu, M. O. C., and Egwurugwu, J. N., 2007. Heavy metal pollution and human biotoxic affects, International Journal of Physical Sciences, 2(5), PP: 112-118.

12-Golalipour, M. J., Roshandel, D., and Roshandel, G. H., 2007. Effect of Lead Intoxication and D-Penicillamine Treatment on Hematological Indices in Rats, International Journal of Morphology, 25(4), PP: 717-722.

13-Halttunen, T., Salminen, S., Meriluoto, J., Tahvonen, R., and Lertola, K., 2008. Reversible surface binding of cadmium and lead by *lactic acid* and *bifidobacteria*, International Journal Food Microbial, 125(2), PP: 170–175.

14-Hamid, A. A., Aiyelaagbe, O. O., Usman, L. A., Ameen, O. M., and Lawal, A., 2010. Antioxidant: its medicinal and pharmacological application, African Journal of Pure and Applied Chemistry, 4(8), PP: 142-151.

15-Hegazy, A. A., Zaher, M. M., Abd EL-hafez, M. A., Morsy, A. A., and Saleh, R. A., 2010. Relatoin between anemia and blood levels of lead, zinc and iron between children, BMC Research Notes, 3, PP: 133.

16-Karadede, H., and Unlu, E., 2000. Concentrations of some Heavy metals in water, sediment and fish species from the Ataturk Dam Lake (Euphrates), Turkey, Chemosphere, 41(9), PP: 1371-1376.

17-Mirzai, H., Amouoghli, B., Hasanpour, A., and Babapour, A., 2008. Study on the Effect of Consuming Different Milk with *lactobacillus casei* 01 on haematological parameters in rat, Research Journal of Biological Sciences, 3(12), PP: 1376-1380.

18-Mugahi, M. N., Heidari, Z., Sagheb, H. M., and Barbarestani, M., 2003, Effects of chronic lead acetate intoxication on blood indices of male adult rat, Dar 11, No: 4.

19-Rafique, M., Perveen, K., Khan, N., and Nigar, S., 2008. Lead intixication causing loss of body weight and loss of absolute weight of testes in albino rats, Hamdard Med, 51, PP: 123-128.

20-Raz, R., Ben-Israel, Y., Gronich, D., Granot, E., Colodner, R., and Visotzky, I., 2005. Usefulness of blood cultures in the management of febrile patients in long-term care facilities, Euro Journal Clinical Microbial Infection Disease, 24(11), PP: 745-8.

21-Sevcikova, M., Modra, H., Slaninova, A., and Svobodova, Z., 2011. Metals as a cause of oxidative stress in fish, Veterinami Medicinal, 56(11), PP: 537-546.

22-Siegel, R. M., and Lagrone, D. H., 1994. The use of zinc protoporphyrine in screening young children for Iron deficiency, Clini Ped, 1, PP: 473-479.

23-Sipos, P., Szentmihalyi, K., Feher, E., Abaza, M., Szilagyi, M., and Blazovics, A., 2003. Some effects of lead contamination on liver and gallbladder bile, Acta Biological Szegediensis, 47, PP: 139-142.

24-Solis Pereyra, B., and Lemmonier, D., 1993.. Induction of human cytokines to bacterial used in dairy foods, Nutr Res, 13, PP: 1127-40.

25-Suman, K. V., and Sinha, P., 2006. Antioxidative and hypocholesterolemic effect of *Lactobacillus casei* sp casei. Indian Journal, Med. Sci. Mub, 60(9), PP: 361-369.

26-Vancikova, Z., Lodiniva-Zahnikova, R., and Radl, J., et al, 2003. The early postnatal development of salivary antibody and immunoglobulin response in children orally colonized with a nonpathogenic, probiotic strain of E. coli Folia Microbial, 48(2), PP: 281-7.

27-Zwennis, W., and Franssen, A., 1990. Use of zinc protoporphyrin in screening individuals for exposure lead, Clin Chem, 36(8), PP: 1456-1459.

Effect of *Lactobacillus rhamnosus* on the lead-induced hematotoxicity in adult rats

Bytolahi F.[1], Fatemi M.[2] and Ghandehari F.[1]

[1] **Microbiology Dept., Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, I.R. of Iran**

[2] **Biology Dept., Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, I.R. of Iran**

Abstract

Lead is one of the most toxic heavy metals for the human health. So researchers are always trying to remove of lead from the environment. Recently it was proved that probiotics by binding to heavy metals remove them from the environment. Hence, in the present study, the protective impact of *Lactobacillus rhamnosus* on hematological factors in rats infected with the lead with a potential to remove lead from the body is evaluated. 32 female rats (130 ± 20 g) were purchased from Pasteur Institute. The animals are randomly divided into 4 groups. A: control group, B: exposed to lead, C: *Lactobacillus rhamnosus* treatment, D: exposed to lead and *Lactobacillus rhamnosus*. After completion of the treatment period (8 weeks), blood parameters and the concentration of zinc protoporphyrine in the blood were measured. Levels of these factors in group D showed no significant change compared to group B. In group B, the number of white blood cells, lymphocytes, platelets and the concentration of zinc protoporphyrine showed a significant increase and the number of red blood cells, hematocrit percentage, hemoglobin concentration and its indices showed a significant decrease relative to the control group while changes of these factors in Group D compared to the control group had a lower level. So probably *Lactobacillus rhamnosus* was able to bind to lead and by its excretion from intestines, prevented from entry of excess lead into the blood. Therefore, the harmful effects of lead on blood factors have reduced.

Key words: *Lactobacillus rhamnosus*, hematological factors, heavy metals