

بررسی تولید کارو تنوئید توسط قارچ فوزاریوم/اگزوسپوریوم و تاثیر آن بر آنزیم‌های کبدی در موش‌های سوری نر

خاطره ترابی^۱، نوشین نقش^{۲*}، محبوبه مدنی^۳

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد گروه بیوتکنولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان، ایران

۲-گروه زیست شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۳-گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

یافته / دوره بیست و دوم / شماره ۱ / بهار ۹۹ / مسلسل ۸۳

چکیده

دریافت مقاله: ۹۸/۱۲/۲۸ پذیرش مقاله: ۹۹/۱۲/۱

مقدمه: کاروتنوئیدها گروه مهمی از رنگدانه‌های طبیعی هستند که توسط گیاهان و برخی میکروارگانیسم‌ها نظیر قارچ‌ها تولید می‌شوند. این رنگدانه‌های مفید دارای خواص مفیدی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز می‌باشند. هدف از پروژه حاضر تولید کاروتنوئید توسط قارچ فوزاریوم/اگزوسپوریوم و تاثیر آن بر آنزیم‌های کبدی در موش‌های سوری نر است.

مواد و روش‌ها: قارچ فوزاریوم/اگزوسپوریوم در محیط سابورد کستروز آگار کشت داده شد. در این روش فرایند استخراج کاروتنوئیدها بوسیله روش حلال در شرایط بهینه مخلوط حلال‌های استون، متانول و پترولیوم اتر به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. در مرحله بعد ۲۴ راس موش سوری نر بطور تصادفی در ۳ گروه هشت تایی تقسیم بندی شدند. ۲ گروه از گروه‌های تیمار تزریق داخل صفاقی (۱۶۳۲ mg/kg) کاروتنوئید را دریافت کردند در ضمن به گروه شاهد ۰/۲ میلی لیتر از سرم فیزیولوژی به صورت داخل صفاقی تزریق شد. سپس خونگیری از قلب موش‌ها صورت گرفت و فاکتورهای کبدی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج با استفاده از نرم افزار spss21 تحلیل شدند و تمامی داده‌ها با روش ANOVA مقایسه گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که کاروتنوئید استخراج شده از قارچ فوزاریوم/اگزوسپوریوم موجب تغییراتی در میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی شد. در گروه تزریق غلیظ (۳۲ mg/kg) میزان آنزیم‌های SGPT و ALP کاهش معنادار ایجاد شد.

بحث و نتیجه‌گیری: خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها در دوز غلیظ باعث بهبود عملکرد کبد و کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی شده است. این عملکرد احتمالاً بدلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها با کنترل استرس اکسیداتیو و به دام انداختن رادیکال آزادها می‌باشد. با توجه به شباهت فیزیولوژیک بدن انسان و موش می‌توان استفاده از کاروتنوئید حاصل شده در دوز غلیظ را به عنوان کاربرد در صنایع غذایی پیشنهاد کرد.

واژه‌های کلیدی: قارچ فوزاریوم/اگزوسپوریوم، آنزیم‌های کبدی، کاروتنوئید، موش سوری نر.

*آدرس مکاتبه: اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، گروه زیست شناسی.

پست الکترونیک: n_naghsh@yahoo.com

مقدمه

قارچ فوزاریوم ابتدا توسط لینک در سال ۱۸۰۹ نام-گذاری شد. بوث در سال ۱۹۷۱ بر اساس اسپورهای دوکی شکل گونه فوزاریوم روزیوم این شبه جنس را نام گذاری کرد. شبه جنس فوزاریوم در شاخه قارچ های ناقص، راسته مونیلیالزو خانواده توپرسولاریسیا قرار دارد. فرم جنسی آن در برخی گونه ها ناشناخته است و در بعضی گونه ها پریسیوم تولید می کنند که در راسته هیپوسر/از از رده سرداریومایسر در شاخه آسکوماست ها قرار دارند و اکثراً مربوط به جنس نکتریا و گیبرلا هستند (۱). در واقع، به طور معمول قارچ های کپکی گونه فوزاریوم، ایجاد فیالیدوکندی می کند، کنیدی ها ۲ تا ۱۱ سلولی بوده و تخم مرغی تا هلالی شکل هستند. کلامیدیوسپورها دارای دیواره ی ضخیم بوده و در انتها یا وسط میسلیم ها قرار دارند. در سیستم طبقه بندی نلسون و همکاران، فوزاریوم به ۳۰ گونه تقسیم شده است (۲). گونه فوزاریوم /گروسپوریوم متعلق به بخش الگانز (Elegans) است. از ویژگی های اعضای این بخش، وجود سلول های مونوفیالید کوتاه و تشکیل سرهای دروغین در انتهای آنها، میکروکنیدیوم های فراوان، ماکروکنیدیوم و کلامیدیوسپور را می توان نام برد (۳). برخی رنگدانه های قارچی مشتقات آنتروکینون هستند که دسته ی مهمی از رنگ های رنگرزی را تشکیل می دهند. بنابراین، ترکیبات قارچی دارای پتانسیل قوی تولید رنگ های نساجی یا واسطه های رنگی بجای سنتز شیمیایی هستند (۴). از طرفی رنگدانه های کاروتنوئیدی از جمله مهم ترین و فراوان ترین رنگدانه های موجود در طبیعت هستند. اما در طبیعت تنها گیاهان و میکروارگانیسم ها توانایی تولید این ترکیبات را دارند. کاروتنوئیدها رنگدانه های ترپنوئید با ۴۰ اتم کربن و مشتق شده از دو واحد ژرانیل ترانسفراز پیروفسفات هستند که عمدتاً در حلال های غیرقطبی محلول هستند. کاروتنوئیدها ترکیبات هیدروفوب، لیپوفیلیک نامحلول در

آب و محلول در حلال هایی مانند استون، الکل و کلروفرم هستند (۵). کاروتنوئیدها شامل دو گروه از ترکیبات هستند گروه اول هیدروکربن های غیراشباع محلول در چربی که تحت عنوان کاروتن ها نامیده می شوند. کاروتن ها فاقد اکسیژن هستند گروه دوم هیدروکربن های غیراشباع محلول در چربی که به صورت اکسید شده درآمده اند و تحت عنوان گزانتوفیل نامیده می شوند که حاوی اکسیژن هستند (۶). کاروتنوئیدها نسبت به عوامل محیطی، مثل نور (مخصوصاً اشعه خورشیدی و UV، گرما، اکسیژن از هوا)، پراکسیدها (از حلال ها) و اسیدها (که می توانند به عنوان عوامل اکسنده عمل کنند) حساس هستند (۷). از طرفی اولین گام در تشخیص آسیب کبدی انجام آزمایش ساده خون است که حضور آنزیم های کبدی مشخص را نشان می دهد. تحت شرایط عادی این آنزیم ها درون سلول های کبدی وجود دارند اما زمانی که کبد آسیب می بیند این آنزیم ها وارد جریان خون می شوند. حساس ترین و پرمصرف ترین آنزیم های تشخیصی کبد، آمینوترانسفرازها هستند (۸). آنها آسپارات آمینوترانسفراز (Aspartate aminotransferase) و آلانین آمینوترانسفراز (Alanine aminotransferase) هستند. این آنزیم ها بطور معمول داخل سلول های کبدی قرار دارند زمانی که کبد دچار آسیب می شود سلول های کبدی آنزیم ها را وارد جریان خون می کنند، بالا رفتن سطح آنزیم ها در خون نشانه آسیب کبدی است. آمینوترانسفرازها باعث کاتالیز واکنش های شیمیایی در سلول ها می شوند که در آن گروه آمین از یک مولکول دهنده به مولکول گیرنده منتقل می گردد (۹). گاما گلوتامیل ترانس پپتیداز که گاما گلوتامیل ترانسفراز (Gamma-glutamyl transferase) نیز خوانده می شود، نوعی آنزیم است که گروه های عامل گاما گلوتامیل را انتقال می دهد. این آنزیم در بسیاری از بافت ها یافت می شود، ولی کارکرد آن در کبد بارزتر است. این

در لانه‌ی حیوانات دانشگاه آزاد فلاورجان با شرایط دمایی 21 ± 2 ، رطوبت مناسب و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۲۱ ساعته نگهداری شدند. حیوانات در این مدت دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. به منظور انجام آزمایش، حیوانات به طور تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی طبقه‌بندی شدند:

گروه اول: در این گروه موش‌ها به عنوان شاهد استفاده شدند و سه نوبت سرم فیزیولوژی به فاصله‌ی سه روز درمیان به مقدار 0.2 میلی‌لیتر بصورت داخل صفاقی به آنها تزریق شد.

گروه دوم: در این گروه ۴ میلی گرم کاروتنوئید تولید شده در 2 میلی لیتر سرم فیزیولوژی حل شد و به هر موش 0.2 میلی‌لیتر از این محلول (32 mg/kg) کاروتنوئید به فاصله‌ی سه روز درمیان تزریق بصورت داخل صفاقی انجام شد.

گروه سوم: در این گروه به کاروتنوئید باقیمانده از مرحله‌ی قبل (16 mg/kg) 0.8 میلی لیتر سرم فیزیولوژی اضافه شد و به هر موش 0.2 میلی لیتر از این محلول به فاصله‌ی سه روز درمیان تزریق بصورت داخل صفاقی انجام شد. سرانجام موش‌ها به وسیله داروی تزریقی ترکیبی از Zylazin 2 ، Ketamine 10 ، بیهوش شدند. پس از بیهوش شدن از قلب موش‌ها خونگیری انجام گرفت و بین یک تا یک و نیم سی سی خون از هر کدام به دست آمد که در ویال‌های ژل دار ۶ سی سی ریخته شد و با دور rpm ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سرم جدا شده به مدت ۴۸ ساعت در یخچال با دمای -20 درجه سانتی‌گراد جهت انجام تست‌های کبدی قرار گرفت. در ضمن اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی بطور کامل لحاظ گردید.

۲-۲ تهیه و استخراج رنگدانه از قارچ فوزاریوم /گزوسپوریوم

در این تحقیق جهت تهیه رنگدانه از قارچ فوزاریوم /گزوسپوریوم که توسط مدنی و همکاران از خاک جدا و شناسایی شده بود استفاده شد.

آنزیم دارای اهمیت تشخیصی نیز می‌باشد و به عنوان یکی از شاخص‌های بیماری کبدی کاربرد دارد. در هپاتیت ویروسی مزمن، افزایش بدون علامت این آنزیم دیده می‌شود. این افزایش معمولاً پس از ۱۲ ماه بروز می‌کند. در بیماری‌های کبد، مجاری صفراوی و پانکراس فعالیت و سطح آنزیم بالا می‌رود. افزایش سطح این آنزیم در موارد هپاتیت ویروسی مزمن، بیماری‌های مجاری صفراوی، بیماری‌های قلبی-عروقی (افزایش خفیف)، مصرف مقادیر زیاد الکل، داروهای گوناگون، مانند باربیتورات‌ها و فنی-توئین، مصرف داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی، نارسایی احتقانی قلب نیز دیده می‌شود (۹). آلکالاین فسفاتاز (Alkaline Phosphatase) آنزیمی در خون انسان است که به تجزیه پروتئین‌ها کمک می‌کند. بدن از آلکالاین فسفاتاز برای تعداد زیادی از فرایندها استفاده می‌کند و بخصوص در عملکرد کبد و رشد استخوان نقش بازی می‌کند. غیر طبیعی بودن میزان آلکالاین فسفاتاز به میزان جزئی موجب نگرانی نیست. البته شدت غیر طبیعی بودن آن نشان‌دهنده یک بیماری زمینه‌ای است، بخصوص آنهایی که به کبد، استخوان‌ها یا صفرا مرتبط هستند. با این حال ممکن است سو تغذیه، تومورهای سرطانی کلیه، مشکلات روده، مشکل در پانکراس یا عفونت شدید را نشان دهد. محدود طبیعی آلکالاین فسفاتاز از فردی به فرد دیگر متفاوت است و بستگی به سن، گروه خونی، جنسیت و باردار بودن شخص دارد (۹). بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی تولید کاروتنوئید توسط قارچ فوزاریوم /گزوسپوریوم و تاثیر آن بر آنزیم‌های کبدی در موش سوری نر به منظور سنجش سلامت کبد صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

۲-۱ طرح آزمایش و نمونه‌گیری

در پژوهش حاضر، تعداد ۲۴ رأس موش سوری نر از نژاد آلبینو در محدود وزنی (۲۵-۳۰ گرم)، تهیه گردید و

۲-۳ تهیه محیط کشت سابورودکستروز آگار و محیط کشت پایه

در این پژوهش مقدار ۶۵ گرم از پودر محیط کشت سابورودکستروز آگار به ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر در ارلن مایر اضافه و به کمک حرارت حل شد. سپس محیط کشت به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو با حرارت ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱/۵-۱/۲ استریل گردید. سپس برای تهیه محیط کشت پایه مورد استفاده از ۱ گرم گلوکز، ۰/۱ گرم عصاره مخمر، ۰/۱ گرم آمونیوم سولفات، ۰/۲ گرم پتاسیم دی هیدروژن فسفات، ۰/۱ گرم منیزیم سولفات هپتاهیدرات استفاده شد که با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر درون ارلن ۲۵۰ میلی لیتری مخلوط حرارت داده شد. سپس اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت انجام گرفت. بعد از رسیدن به دمای محیط برای انجام مراحل بعدی آزمایش درون یخچال قرار داده شد (۱۰).

۲-۴ تلقیح قارچ به محیط کشت پایه

در این مرحله قارچ فوزاریوم/گزوسپوریوم رشد کرده به اندازه یک لوپ درون ۱۰۰ میلی لیتر از محیط پایه تلقیح شد، پنبه گذاری انجام شد و درون انکوباتور شیکردار با دمای ۲۸-۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳-۴ روز برای رشد، قرار داده شد. بعد از این مدت، ارلن حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محیط پایه و قارچ در ۴ لوله فالكون ۵۰ میلی لیتری به میزان ۲۵ میلی لیتر در هر فالكون تقسیم شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۳۰۰۰ سانتریفوژ گردید. این عمل ۳ بار تکرار شد تا هیچ گونه محیط کشتی همراه قارچ نباشد. سپس قارچ های ته نشین شده که عاری از محیط کشت بودند با لوپ استریل از فالكون خارج و به پلیت های شیشه ای استریل با قطر ۱۰ سانتی متری منتقل شد و درون فور با دمای ۴۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و خشک شد. سپس پلیت ها از فور خارج شد و با تیغ بیستوری استریل در کنار شعله قارچ-

های خشک شده تراشیده شد و درون هاون جهت شکسته شدن دیواره سلولی، کوبیده و کاملاً پودر شد و به فالكون های ۵۰ میلی لیتری استریل منتقل شد و سپس در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت (۱۰).

۲-۵ جداسازی و شستشوی رنگدانه از قارچ

پس از ۲۴ ساعت فالكون ها از فریزر خارج شد و روی آنها ۷ میلی لیتر استون و سپس ۳ میلی لیتر متانول ریخته شد و روی روتاتور به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و سپس سانتریفوژ شد. محلول رویی با سمپلر ۵۰۰ ماکرولیتر برداشته شد و پترولیوم اتر قطره قطره به آن اضافه گردید تا محلول دو فازی تشکیل شد. بعد از آن رنگدانه ای جدا شده از فاز پترولیوم به درون ویال منتقل شد و روی آن سرم فیزیولوژی ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۳۰۰۰ سانتریفوژ شد. محلول رویی حاوی کاروتنوئید برداشته شد و به ویال دیگری منتقل گردید و مجدداً این عمل با ۳ بار تکرار، جهت حذف پترولیوم اتر، قارچ و محیط کشت، استون و متانول باقیمانده انجام گرفت. کاروتنوئید استخراج شده برداشته شد و درون کوت های دستگاه اسپکتروفتومتر برای خواندن جذب قرار داده شد (۱۰).

۲-۶ مطالعات آماری

بعد از سنجش مقایسه میانگین فعالیت آنزیم های SGOT, SGPT, ALP, GGT در برنامه نرم افزاری SPSS 21 با آزمون ANOVA انجام شده است و نمودارها با Excel رسم شدند.

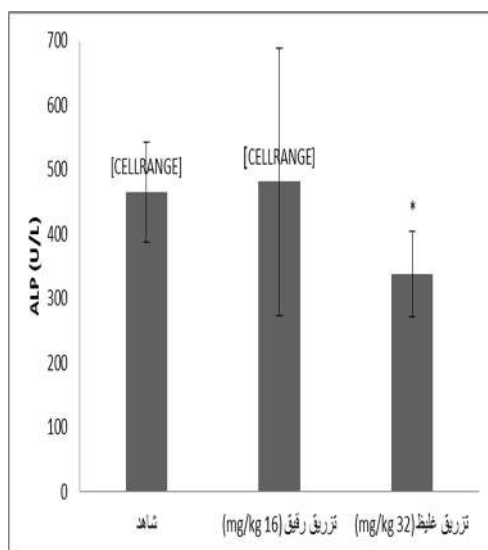
یافته ها

نتایج تعیین میزان SGOT سرم موش ها

مقایسه میانگین میزان فعالیت SGOT در گروه های مختلف نشان داد که در گروه تزریق غلیظ (۳۲ mg/kg) میزان این فعالیت، 85 ± 11 U/L بوده، که در مقایسه با گروه شاهد 86 ± 9 U/L کاهش یافته است و این تفاوت از نظر آماری معنی دار نیست (نمودار ۱).

نتایج تعیین میزان ALP سرم موش‌ها

مقایسه میانگین میزان فعالیت ALP در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروه تزریق غلیظ میزان این فعالیت، 338 ± 52 U/L بوده که به طور معنی‌داری از دو گروه شاهد به میزان 464 ± 62 U/L و گروه تزریق رقیق به میزان 480 ± 129 U/L کاهش یافت (نمودار ۳). این کاهش از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

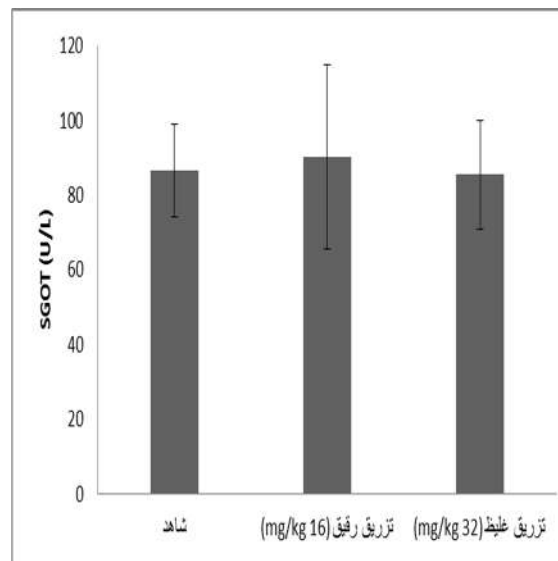


نمودار شماره ۳: مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم ALP در گروه‌های مختلف موش‌های سوری نر

*= تفاوت معنی‌دار در مقایسه با شاهد در سطح ۰/۰۵

نتایج تعیین میزان GGT سرم موش‌ها

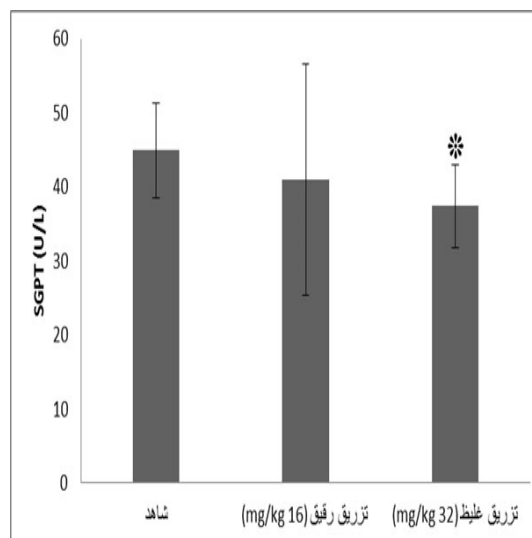
مقایسه میانگین میزان فعالیت GGT در گروه‌های مختلف نشان داد در هر ۲ گروه، میانگین گروه‌های رقیق به میزان $4/48 \pm 1/30$ U/L و گروه غلیظ به میزان $4/27 \pm 0/85$ U/L نسبت به گروه شاهد به میزان $4/37 \pm 1/18$ U/L تفاوت قابل ملاحظه‌ای نداشت (نمودار ۴).



نمودار شماره ۱: مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم SGOT در گروه‌های مختلف موش‌های سوری نر

نتایج تعیین میزان SGPT سرم موش‌ها

مقایسه میانگین میزان فعالیت SGPT در گروه‌های مختلف نشان دادند که در گروه تزریق غلیظ 37 ± 5 U/L بوده که در مقایسه با گروه تزریق رقیق 41 ± 9 U/L و گروه شاهد 44 ± 5 U/L کاهش پیدا کرد که این کاهش از نظر آماری معنی‌دار است ($P < 0.05$) (نمودار ۲).



نمودار شماره ۲: مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم SGPT در گروه‌های مختلف موش‌های سوری نر

*= تفاوت معنی‌دار در مقایسه با شاهد در سطح ۰/۰۵

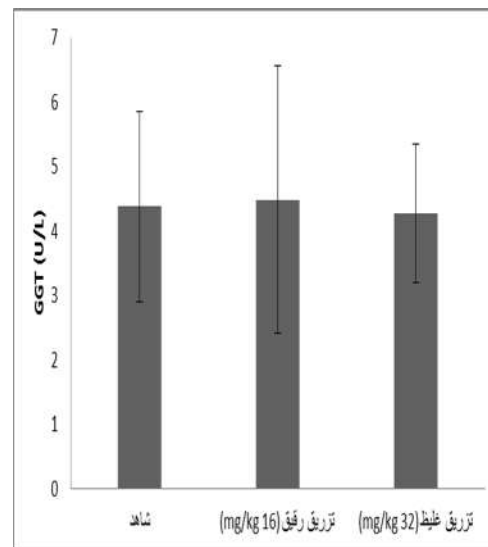
SGOT و ALP در موش‌های سوری نر نشان دهنده کاهش سمیت کبدی است.

بحث و نتیجه گیری

Seif el din و همکاران در طرح خود، بررسی تاثیرات روزوواستاتین و بتاکاروتن در رت‌های دارای بیماری کبد چرب غیر الکلی را نشان دادند. در این طرح به مدت ۴ هفته بتاکاروتن به میزان ۱۰ mg/kg و روزوواستاتین به میزان ۷۰ mg/kg به رت‌ها گاوژ گردید در نتیجه سطوح سرم ALT، AST، ALP، گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT)

به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه نرمال افزایش یافت (۱۲). این نتایج با طرح حاضر مغایرت دارد دلیل این تفاوت را می‌توان به چرب بودن کبد و یا کم بودن دوز مصرفی کاروتنوئید نسبت به تحقیق حاضر دانست.

Suvarnalatha و همکاران در مطالعاتی اثرات بتا کاروتن (۰/۵۲ mg/kg) بر سمیت کبدی موش‌های آزمایشگاهی را بررسی کردند. درمان با بتاکاروتن افزایش قابل توجهی در سطح گلیکوژن کبد و کاهش معنی‌داری در آنزیم‌های کبدی (ALP، SGPT، SGOT، GGT) مشاهده شد. از طرفی دیگر نیز سطح کلسترول تام سرم و تری‌گلیسیرید به طور معنی‌داری کاهش یافت. احتمالاً تاثیرات جذب رادیکال‌های آزاد توسط کاروتنوئید باعث کاهش فعالیت SGPT و ALP شده و سمیت کبدی را کاهش داده است (۱۳). در تحقیق حاضر نیز احتمالاً خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها در دوز غلیظ با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد بهبود عملکرد کبدی را موجب شده‌اند. از طرفی در مطالعاتی دیگر بررسی اثر محافظتی کاروتنوئید در بهبود آسیب کبدی موش‌های صحرایی نر تحت مسمومیت حاد با تتراکلرید کربن انجام گرفت. بعد از ۹۶ ساعت، بررسی پاتولوژی بافت کبد و پارامترهای بیوشیمیایی سرمی (ALT و AST و ALP) در بین گروه‌های مورد تیمار با مخلوط تتراکلرید کربن و دوزهای مختلف کاروتنوئید در مقایسه با کنترل انجام شد. نتایج نشان داد دریافت



نمودار شماره ۴. مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم GGT در گروه‌های مختلف موش‌های سوری نر

کاروتنوئیدها رنگدانه‌هایی هستند که معمولاً در گیاهان، جلبک‌ها و باکتری‌های فتوسنتتیک، به دلیل نقش حیاتی آنها در فرآیندهای فتوسنتزی یافت می‌شوند. همچنین این رنگدانه‌ها در بعضی از باکتری‌های غیر فتوسنتزی، مخمرها و کپک‌ها نیز به عنوان آنتی‌اکسیدان و پایدارکننده غشاهای سلولی و به منظور حفاظت در برابر آسیب‌های ناشی از نور و اکسیژن تولید می‌شوند (۱۱).

از جمله فاکتورهایی که در این مطالعه در سرم خون به منظور بررسی اثر سمیت کبدی توسط کاروتنوئید تولید شده از قارچ فوزاریوم اگزوسپوریوم مورد توجه قرار گرفته بود آنزیم‌های SGOT، SGPT، ALP و GGT بودند.

میزان آنزیم SGPT در گروه تزریق غلیظ (۳۲ میلی- گرم/کیلوگرم) نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد (نمودار ۱). میزان SGOT در دو گروه تزریق غلیظ و رقیق نسبت به گروه شاهد تفاوت معناداری نشان نداد (نمودار ۲). گروه تزریق غلیظ (۳۲ میلیگرم/کیلوگرم) کمترین میزان ALP را نسبت به گروه شاهد و تزریق رقیق نشان داد (نمودار ۳). میزان GGT در گروه‌های تزریق رقیق و تزریق غلیظ نسبت به گروه شاهد، تغییرات معناداری نشان داده نشد (نمودار ۴). کاهش فعالیت

تتراکلرید کربن موجب نکروز و التهاب حاد در کبد موش‌ها می‌شود. تیمار با کاروتنوئید منجر به یک کاهش وابسته به دوز معنی‌دار ($p < 0.05$) در تمامی پارامترهای بیوشیمیایی و هیستولوژیکی بافت کبد مورد بررسی می‌شود. در مطالعه حاضر احتمالاً در گروه تزریق غلیظ همین واکنش‌ها دخالت داشتند لذا کاروتنوئید حاوی ترکیبات شیمیایی محافظت کننده‌ای نظیر آنتی‌اکسیدان‌ها است که قادرند با مکانیسم‌هایی نظیر مقابله با استرس اکسیداتیو، کبد را در برابر آسیب‌های کبدی محافظت کنند (۱۴). احتمالاً کاروتنوئید با جلوگیری از مرگ برنامه ریزی شده سلولی (Apoptosis) باعث بهبود عملکرد کبدی و سم زدایی (Detoxification) از کبد شده‌اند.

Agarwal و همکاران تاثیر فوزاریوم و نقش حفاظتی آن را در برابر آفاتوکسین B1 در هشت گروه موش ماده ارزیابی نمودند. آفاتوکسین B1، سطح آنزیم‌های کبدی (ALT، AST و GGT) و همچنین مارکرهای عملکردی کلیه (اسید اوریک و کراتینین) را به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد. سه گروه از موش‌ها پس از گذشت یک ساعت از تزریق آفاتوکسین، با سه سویه G1، G2 و G3 از فوزاریوم درمان گردیدند. نتایج این تحقیق نیز در راستای تحقیق حاضر به دست آمده که کاهش آنزیم‌های کبدی احتمالاً به دلیل کاهش آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده کبدی می‌باشد. احتمالاً کاروتنوئیدها با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد جلوی فعال شدن مسیرهای آنزیم‌های کاسپازی در سلول‌های کبدی را گرفته‌اند و باعث افزایش خاصیت سم‌زدایی کبد شده‌اند (۱۵). Tsodikova و همکاران در طرح خود اثر بتاکاروتن بر سمیت کبدی القا شده با جنتامایسین در موش‌های صحرایی را انجام دادند. جنتامایسین باعث ایجاد نکروز و التهاب در بافت کبد و افزایش معنادار سطح سرمی آنزیم‌های کبدی گردید. درمان با بتاکاروتن سبب کاهش معنادار سطح سرمی آنزیم‌های کبدی در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه

دریافت کننده جنتامایسین شد، بیشترین تأثیر معنا دار را دوز بالای بتاکاروتن ایجاد نمود (۱۶). نتایج این طرح با طرح حاضر در دوزهای بالا همخوانی دارد و موجب کاهش آنزیم‌های کبدی گردیده است که دلیل آنرا می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها و جلوگیری از استرس اکسیداتیو دانست.

در طرحی تاثیر کاروتنوئید در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که مصرف خوراکی کاروتنوئید با دوز ۰/۴۵ میلی- گرم/کیلوگرم وزن بدن دارای اثرات کاهش قند خون و افزایش انسولین خون است. همچنین این رنگدانه با دوز ۰/۴۵ گرم/کیلوگرم وزن بدن مانع از دست رفتن وزن بدن در موش دیابتی شد (۱۷). نتایج این طرح با طرح حاضر همخوانی دارد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئید را در دوز بالا نشان می‌دهد. زیر کاروتنوئید دارای یک زنجیره بلند پلی‌ان کنژوگه می‌باشد که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را به دام بیندازد و موجب بهبود وضعیت گردد.

امروزه کاروتنوئید به عنوان یک آنتی‌اکسیدان شناخته شده است. زیرا کاروتنوئید در ساختار خود دارای ۸ اتم هیدروژن و ۵ اتم کربن می‌باشد رادیکال‌های آزاد اتم‌های فعال و یا گروهی از اتم‌ها با تعداد الکترون‌های فرد هستند. وجود الکترون‌های فرد در ساختار رادیکال‌های آزاد، آنها را ناپایدار و واکنش پذیر می‌سازد بنابراین تمایل واکنش با اتم هیدروژن را دارند و طی انجام این واکنش رادیکال‌های آزاد به دام افتاده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئید فعال می‌گردد.

با توجه به نتایج طرح حاضر می‌توان قارچ فوزاریوم اگزوسپوریوم را یک منبع مناسب تولید کاروتنوئیدها به ویژه بتاکاروتن در نظر گرفت و بعنوان یک مکمل غذایی در انسان پیشنهاد نمود. نتایج آنزیم‌های کبدی در این پژوهش بیانگر آن است که در گروه تزریق غلیظ (mg/kg) ۳۲ نیز میزان فعالیت آنزیم‌های SGPT و ALP کاهش

نشان داد. علت این کاهش آنزیم را به خاصیت آنتی-اکسیدانی کاروتنوئید می‌توان نسبت داد. کاهش فعالیت آنزیم‌های فوق در کبد نشان‌دهنده سلامت کبد موش‌های سوری نر است. با توجه به شباهت فیزیولوژیک بدن انسان و موش، دوز غلیظ کاروتنوئید بدست آمده از قارچ مذکور به عنوان یک رنگدانه بیولوژیک کاربردی در صنایع غذایی برای انسان پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

در پایان از کلیه دوستان و همکاران عزیزی که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند تشکر و قدانی می‌نماییم

References

1. Manimala MRA, Murugesan R. Carotenoid Pigment Production from Yeast: Health Benefits and Their Industrial Applications. *International Journal of Chemical Studies*, 2017; 5(6): 392-395.
2. Barimala I S and Gordon M H. Cooxidation of β -Carotene by Soybean lipoxygenase. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 2016; 36: 685-687.
3. Sedmak JJ, Weerasinghe DK, Jolly SO. 2016. Extraction and quantitation of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*, *Biotechnology Techniques*, 2016; 4: 107-112.
4. Hernández-Almanza A, Montañez-Sáenz J, Martínez-Ávila C, Rodríguez-Herrera R, Aguilar C. Carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* YB-252 in solid-state fermentation. *Food Bioscience*, 2014; 7: 31-36.
5. Woodside J.V, McGrath A.J, Lyner N, McKinley M.C. Carotenoids and health in older people. *Maturitas*, 2016; 80(1): 63-68.
6. Wagner L.A and Warthesen J.J. Protective effects of Carotinoids Extracted from *Rhodotorula* Species on Bladder Cancer in adult Wistar Rats. *Journal of Food Science*, 2016; 60: 1048-1053.
7. Tsodikova SG, Labby KJ. The protective effect of effect of beta carotene extract n liver toxicity induced by gentamicin in male rats: Overview and ctives. *Medchemcomm*, 2016; 7(1): 11-17.
8. Soliev A. B. "Bioactive pigments from marine bacteria: applications and pHyiological roles," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2011.
9. Schneider T, Graeff-Honninger S, French WT, Hernandez R Merkt N, Claupein W, et al. Lipid and carotenoid production by oleaginous red yeast *Rhodotorula* cultivated on brewery effluents. *Energy*, 2013; 61: 34-43.
10. Munch G, Sestric R, Sparling R, Levin DB, Cicek N. Lipid production in the under-characterized oleaginous yeasts, *Rhodospiridium babjevae* and *odospiridium diobovatum*, from biodiesel-derived waste glycerol. *Bioresour Technol*, 2015; 185: 49-55.
11. Kelly M, Norgård S, Liaaen-Jensen S. Bacterial carotenoids. XXXI. C50 carotenoids 5. Carotenoids of *Halobacterium salinarum*, especially bacterioruberin. *Acta Chem. Scand*, 2012; 24: 2169-2182.
12. Seifeldin A, Dhar D.W, Singh K. Evaluation of the effects of rosuvastatin and beta-carotene in non-alcoholic fatty liver rats. *Research in Biotechnology*, 2015; 2(2): 67-74.
13. Suvarnalatha G, Rajendran L, Ravishankar G, Venkataraman L. Effects of beta-carotene on liver toxicity in laboratory mice. *Letters*, 2014; 16: 1275-1280.
14. Angelini LG, Bertoli A, Rolandelli S, Pistelli L. Agronomic potential of *Reseda luteola* L. as new crop for natural dyes intextiles production, *Ind. Crops Prod*, 2016; 17: 199-207.
15. Agarwal S, Rao A. V. The effect of *Fusarium* and its protective against aflatoxin B1, 2013; 33: 981-984.

An Investigation of Carotenoid Production by *Fusarium Exosporium* and Its Effect on Liver Enzymes in Male mice

Torabi Kh¹, Naghsh N^{2*}, Madani M³

1. MSc in Biotechnology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran

2. Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran, n_naghsh@yahoo.com

3. Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Received: March. 18, 2020

Accepted: Apr. 20, 2020

Abstract

Background: Carotenoids comprise a significant group of natural pigments produced by plants and some microorganisms such as fungi. These useful pigments have beneficial properties, including the antioxidant property. The goal of the present project is to produce carotenoids by *Fusarium oxysporum* fungus and its effect on liver enzymes in male mice.

Materials and Methods: *Fusarium exosporium* fungus was cultured in a suburodecroserase agar medium. In this study, carotenoids were first extracted by the solvent method under optimal conditions of the solvent mixture of acetone, methanol and petroleum ether for 24 hours. The drying process of pigment extraction was carried out using Davis method. In the next stage, 24 male mice were randomly divided into three groups of eight mice. Two treatment groups received carotenoid via intraperitoneal injection (16 and 32 mg / kg), and the last group received this product in the control group. 0.2 mL of physiologic serum was injected intraperitoneally. Subsequently, heart blood was collected from the rats and liver factors were evaluated. The results were analyzed using SPSS 21 software and all the data were compared using the ANOVA method.

Results: The results showed that carotenoid extracted from *Fusarium oxysporum* fungus altered the activity of liver enzymes. The concentration of SGPT and ALP enzymes significantly decreased in the injectable group (32 mg / kg).

Conclusion: The antioxidant properties of carotenoids in thick doses reduced the activity of liver enzymes. This function is probably due to the antioxidant properties of carotenoids and the oxidative stress control and radical trapping of free radicals. Given the physiological similarities between the human body and mice, the use of high doses of carotenoids in food industries is recommended.

Keywords: *Fusarium oxysporum* fungus, liver enzymes, carotenoid, male mice

*Citation: Torabi Kh, Naghsh N, Madani M. An Investigation of Carotenoid Production by *Fusarium Exosporium* and Its Effect on Liver Enzymes in Male mice. Yafte. 2020; 22(1):121-130.