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: ۹۹/۲/۱

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 سابورودکستروز 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. درمرحله بعد ۲۴ راس موش سوری نر بطور تصادفی در ۳ گروه هشت تایی تقسیم بندی شدند. ۲ گروه از گروه‌های تیمار تزریق داخل صفاقی (mg/kg ۳۲و۱۶) 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 (mg/kg ۳۲) 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 احتمالا 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 نام‌گذاری کرد. شبه جنس *فوزاریوم* در شاخه قارچ‌های ناقص، راسته مونیلیالزو خانواده توبرسولاریسیا قرار دارد. فرم جنسی آن در برخی گونه‌ها ناشناخته است و در بعضی گونه‌ها *پریتسیوم* تولید می‌کنند که در راسته *هیپوسرآلز* از رده *سرداریومایسز* در شاخه آسکومایست‌ها قرار دارند و اکثراً مربوط به جنس *نکتریا و گیبرلا* هستند (۱). در واقع، به طور معمول قارچ‌های کپکی گونه *فوزاریوم*، ایجاد فیالیدوکنیدی می‌کند، کنیدی‌ها ۲ تا ۱۱ سلولی بوده و تخم‌مرغی تا هلالی شکل هستند. کلامیدیوسپورها دارای دیواره‌ی ضخیم بوده و در انتها یا وسط میسلیوم‌ها قرار دارند. در سیستم طبقه‌بندی نلسون و همکاران، فوزاریوم به ۳۰ گونه تقسیم شده است (۲). گونه *فوزاریوم اگزوسپوریوم* متعلق به بخش الگانز (Elegans) است. از ویژگی‌های اعضای این بخش، وجود سلول‌های مونوفیالید کوتاه و تشکیل سرهای دروغین در انتهای آنها، میکروکنیدیوم‌های فراوان، *ماکروکنیدیوم* و *کلامیدیوسپور* را می‌توان نام برد (۳). برخی رنگدانه‌های قارچی مشتقات آنتروکینون هستند که دسته‌ی مهمی از رنگ‌های رنگرزی را تشکیل می‌دهند. بنابراین، ترکیبات قارچی دارای پتانسیل قوی تولید رنگ‌های نساجی یا واسطه‌های رنگی بجای سنتز شیمیایی هستند (۴). از طرفی رنگدانه‌های کاروتنوئیدی از جمله مهم‌ترین و فراوان ترین رنگدانه‌های موجود در طبیعت هستند. اما در طبیعت تنها گیاهان و میکروارگانیسم‌ها توانایی تولید این ترکیبات را دارند.کاروتنوئیدها رنگدانه‌های ترپنوئید با ۴۰ اتم کربن و مشتق شده از دو واحد ژرانیل ترانسفراز پیروفسفات هستند که عمدتا در حلال‌های غیرقطبی محلول هستند. کاروتنوئیدها ترکیبات هیدروفوب، لیپوفیلیک نامحلول در آب و محلول در حلال‌هایی مانند استون، الکل و کلروفرم هستند (۵). کاروتنوئیدها شامل دو گروه از ترکیبات هستند گروه اول هیدروکربن‌های غیراشباع محلول در چربی که تحت عنوان کاروتن‌ها نامیده می‌شوند. کاروتن‌ها فاقد اکسیژن هستند گروه دوم هیدروکربن‌های غیراشباع محلول در چربی که به صورت اکسید شده درآمده‌اند و تحت عنوان گزانتوفیل نامیده می‌شوند که حاوی اکسیژن هستند (۶). کاروتنوئیدها نسبت به عوامل محیطی، مثل نور (مخصوصاً اشعه خورشیدی و UV، گرما، اکسیژن از هوا)، پراکسیدها (از حلال‌ها) و اسیدها (که می‌توانند به عنوان عوامل اکسنده عمل کنند) حساس هستند (۷). از طرفی اولین گام در تشخیص آسیب کبدی انجام آزمایش ساده خون است که حضور آنزیم‌های کبدی مشخص را نشان می‌دهد. تحت شرایط عادی این آنزیم‌ها درون سلول‌های کبدی وجود دارند اما زمانی که کبد آسیب می‌بیند این آنزیم‌ها وارد جریان خون می‌شوند. حساس-ترین و پرمصرف‌ترین آنزیم‌های تشخیصی کبد، آمینوترانسفرازها هستند (۸). آنها آسپارتات آمینوترانسفراز (Aspartate aminotransferase) و آلانین آمینوترانسفراز (Alanine aminotransferase) هستند. این آنزیم‌ها بطور معمول داخل سلول‌های‌کبدی قرار دارند زمانی که‌کبد دچار آسیب می‌شود سلول-های کبدی آنزیم‌ها را وارد جریان خون می‌کنند، بالارفتن سطح آنزیم‌ها در خون نشانه آسیب کبدی است. آمینوترانسفرازها باعث کاتالیز واکنش‌های شیمیایی در سلول‌ها می‌شوند که در آن گروه آمین از یک مولکول دهنده به مولکول گیرنده منتقل می‌گردد (۹). گاما گلوتامیل ترانس پپتیداز که گاما گلوتامیل ترانسفراز (Gamma-glutamyl transferase) نیز خوانده می‌شود، نوعی آنزیم است که گروه‌های عامل گاما گلوتامیل را انتقال می‌دهد. این آنزیم در بسیاری از بافت‌ها یافت می‌شود، ولی کارکرد آن در کبد بارزتر است. این

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 می شود (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 اگزوسپوریوم* 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 در لانه‌ی حیوانات دانشگاه آزاد فلاورجان با شرایط دمایی ۲ ±۲۱، 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 3 گروه 8 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 ۰/۲ میلی‌لیتر بصورت داخل صفاقی به آنها تزریق شد.

گروه دوم: در این گروه ۴ میلی‌گرم کاروتنوئید تولید شده در ۲ میلی لیتر سرم فیزیولوژی حل شد و به هر موش ۰/۲ میلی‌لیتر از این محلول (۳۲ 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(۱۶ mg/kg) ۰/۸ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی اضافه شد و به هر موش ۰/۲ میلی‌لیتر از این محلول به فاصله‌ی سه روز درمیان تزریق بصورت داخل صفاقی انجام شد. سرانجام موش‌ها به وسیله داروی تزریقی ترکیبی از Zylazin ۲٪، Ketamine ۱۰٪، بیهوش شدند. پس از بیهوش شدن از قلب موش‌ها خونگیری انجام گرفت و بین یک تا یک و نیم سی‌سی خون از هرکدام به دست آمد که در ویال‌های ژل‌دار ۶ سی‌سی ریخته شد و با دور rpm ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سرم جدا شده به مدت ۴۸ ساعت در یخچال با دمای ۲۰- 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 اگزوسپوریوم*

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

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

در این پژوهش مقدار ۶۵ گرم از پودر محیط کشت سابورو دکستروز 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، ۰/۱گرم آمونیوم سولفات، ۰/۲ گرم پتاسیم دی هیدروژن فسفات، ۰/۱ گرم منیزیوم سولفات هپتاهیدرات استفاده شد که با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون ارلن ۲۵۰ میلی لیتری مخلوط حرارت داده شد. سپس اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد 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 اگزوسپوریوم* رشد کرده به اندازه یک لوپ درون ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط پایه تلقیح شد، پنبه‌گذاری انجام شد و درون انکوباتور شیکردار با دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳-۴ روز برای رشد، قرار داده شد. بعد از این مدت، ارلن حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط پایه و قارچ در ۴ لوله فالکون ۵۰ میلی-لیتری به میزان ۲۵ میلی‌لیتر در هر فالکون 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 قارچ‌های ته‌نشین شده که عاری از محیط کشت بودند با لوپ استریل از فالکون خارج و به پلیت‌های شیشه‌ای استریل با قطر ۱۰ سانتی‌متری منتقل شد و درون فور با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و خشک شد. سپس پلیت‌ها 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 کاملا پودر شد و به فالکون-های ۵۰ میلی‌لیتری استریل منتقل شد و سپس در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت (۱۰).

۲-۵ جداسازی و شستشوی رنگدانه از قارچ

پس از ۲۴ ساعت فالکون‌ها از فریزر خارج شد و روی آنها ۷ میلی‌لیتر استون و سپس ۳ میلی‌لیتر 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 رنگدانه‌ی 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 مجددا 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 کوت‌های دستگاه اسپکتروفوتومتر برای خواندن جذب قرار داده شد (۱۰).

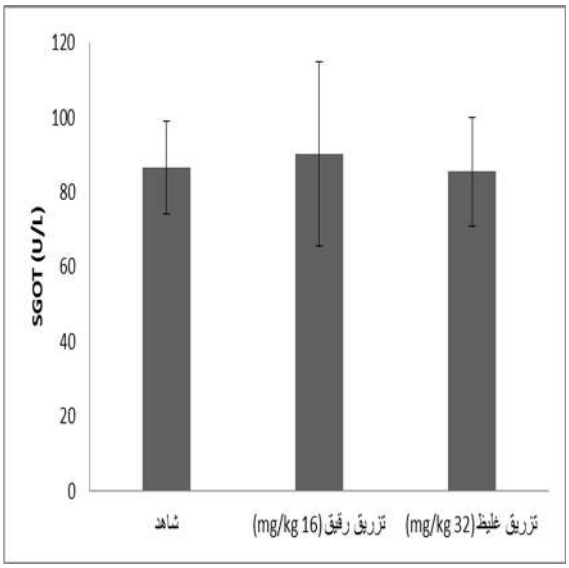
۲-۶ مطالعات آماری

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

یافته‌ها

نتایج تعیین میزان SGOT سرم موش‌ها

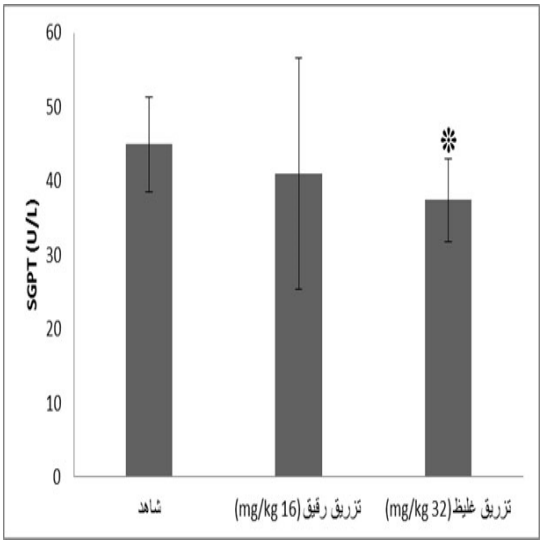
مقایسه میانگین میزان فعالیت SGOT در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروه تزریق غلیظ (۳۲ mg/kg) میزان این فعالیت، ۱۱U/L± ۸۵ بوده، که در مقایسه با گروه شاهد ۹U/L±۸۶ کاهش یافته است و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نیست (نمودار ۱).



نمودارشماره۱ : 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 (U/L ۳۷±۵) بوده که در مقایسه با گروه تزریق رقیق (U/L ۴۱±۹) و گروه شاهد (U/L ۵ ± ۴۴) کاهش پیدا کرد که این کاهش از نظر آماری معنی‌دار است (P <۰/۰۵) (نمودار ۲).

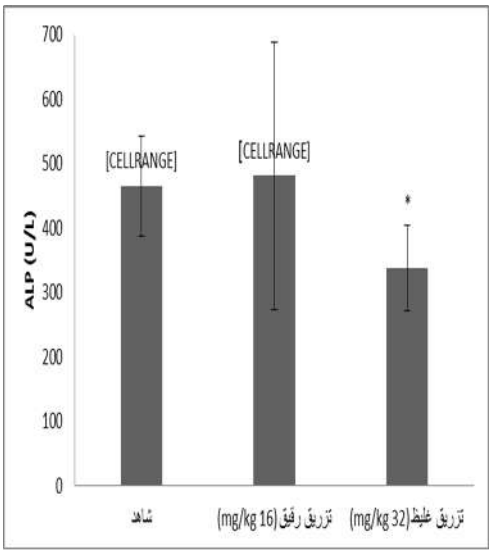


نمودارشماره۲: مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم SGPT در گروه‌های مختلف موش‌های سوری نر

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

نتایج تعیین میزان ALP سرم موش‌ها

مقایسه میانگین میزان فعالیت ALP در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروه تزریق غلیظ میزان این فعالیت، U/L ۳۳۸±۵۲ بوده که به طور معنی‌داری از دو گروه شاهد به میزان U/L ۴۶۴±۶۲ و گروه تزریق رقیق به میزان U/L ۴۸۰±۱۲۹ کاهش یافت (نمودار۳). این کاهش از نظر آماری معنی‌دار بود (P <۰/۰۵).

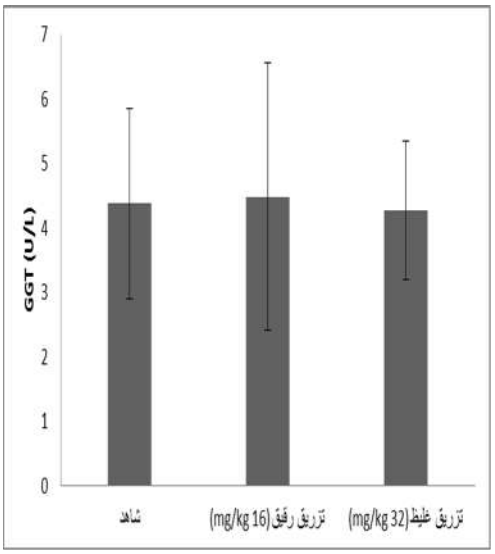


نمودارشماره۳: مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم ALP در گروه‌های مختلف موهای سوری نر

*= تفاوت معنی دار 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 U/L ۴/۴۸±۱/۳۰ و گروه غلیظ به میزان U/L ۴/۲۷±۰/۸۵ نسبت به گروه شاهد به میزان U/L ۴/۳۷±۱/۱۸ تقریبا مشابه بوده و تفاوت قابل ملاحظه‌ایی نداشت (نمودار۴).



نمودارشماره۴. 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 پایدارکنندهٔ 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 (نمودار۱). میزان SGOT در دو گروه تزریق غلیظ و رقیق نسبت به گروه شاهد تفاوت معناداری نشان نداد (نمودار۲). گروه تزریق غلیظ (۳۲ میلیگرم/کیلوگرم) کمترین میزان ALP را نسبت به گروه شاهد و تزریق رقیق نشان داد (نمودار۳). میزان GGT در گروه های تزریق رقیق و تزریق غلیظ نسبت به گروه شاهد، تغییرات معناداری نشان داده نشد (نمودار۴). کاهش فعالیت 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 mg/kg ۱۰ و روزوواستاتین به میزان mg/kg ۷۰ به رت‌ها گاواژ 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 مطالعه‌ای اثرات بتا کاروتن (mg/kg ۰/۵۲) 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. احتمالا 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 احتمالا خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها در دوز غلیظ با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد بهبود عملکرد کبدی را موجب شده‌اند. از طرفی در مطالعه‌ای 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 (نظیر 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

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 احتمالا 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). احتمالا 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 آفلاتوکسین B1 در هشت گروه موش ماده ارزیابی نمودند. آفلاتوکسین 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 آفلاتوکسین، 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 احتمالا به دلیل کاهش آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده کبدی می‌باشد. احتمالا 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 درموش‌های صحرایی نر انجام دادند. جنتامایسین باعث ایجاد نکروز و التهاب در بافت کبد و افزایش معنادار سطح سرمی آنزی های 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 آنتی اکسیدانی کاروتنوئید را در دوز بالا نشان می‌دهد. زیر کاروتنوئید دارای یک زنجیره بلند پلی ان کنژوگه می‌باشد که می واند 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 درگروه 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 مذبور 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 قد دانی 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-ÁvilaC, Rodríguez-Herrera R, Aguilar C. Carotenoid production by Rhodotorula glutinis YB-252 in solid-state ermentation. *Food Bioscience*,2014; 7:31-36.
5. Woodside J.V, McGrath A.J, Lyner N, McKinley M.C. Carotenoids andhealth in older people. Maturitas,2016; 80(1):63-68.
6. Wagner L.A and Warthesen J.J. Protective effects of Carotinoids Extracted from *Rhodoturula* 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 nliver toxicity induced by gentamicin in male rats: Overviewand ctives. Medchemcomm, 2016;7(1):11-17.
8. Soliev A. B. "Bioactive pigments from marine bacteria: applications and pHysiological roles," Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, vol.2011.
9. Schneider T, Graeff-Honninger S, French WT, HernandezR 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 oleaginousyeasts, *Rhodosporidium babjevae* and *odosporidiumdiobovatum*, 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 *Halobacteriumsalinarium,* especially bacterioruberin. *ActaChem. 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 Kh[1], Naghsh N[2*], Madani M[3]

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 randolmly 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 was 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.