DOI: 10.22122/jims.v36i468.9055 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و ششم/شماره‌ی ۴۶۸/هفته‌ی چهارم فروردین ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۹/۱۳ تاریخ چاپ: ۱۳۹۷/۱/۲۲

پاراپروبیوتیک‌ها: راه حلی برای خروج از مشکلات تولید و مصرف پروبیوتیک‌ها

آتناسادات سمبلستانی[۱]، رسول شفیعی[۲]، محمد ربانی خوراسگانی[۳]

مقاله مروری

چکیده

پروبیوتیک‌ها یکی از روش‌های نوین، مؤثر و پذیرفته شده به منظور تخفیف حدت و کمک به درمان برخی از بیماری‌ها در عصر حاضر می‌باشند. با این وجود، محدودیت‌هایی پیش روی تولید، عرضه و مصرف باکتری‌های زنده قرار دارد. از جمله روش‌های جدید که تا حد بسیار زیادی می‌تواند این محدودیت‌ها را برطرف کند، استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها است. پاراپروبیوتیک‌ها، فرم‌های غیر زنده‌ی باکتری‌های پروبیوتیک هستند که به صورت دست نخورده یا سلول شکسته شده و یا عصاره‌ی سلول قابل استفاده هستند. بهبود برخی از بیماری‌ها در انسان و حیوانات در صورت مصرف خوراکی یا موضعی پاراپروبیوتیک‌ها اثبات شده است. در این مقاله، پس از معرفی پاراپروبیوتیک‌ها، سعی شده است روش‌های تولید و نیز تأثیر آن‌ها بر سلامتی انسان بر اساس پژوهش‌های انجام شده در دو دهه‌ی گذشته (با تأکید بر مطالعات اخیر) ارایه شود.

واژگان کلیدی: پاراپروبیوتیک، پروبیوتیک، سیستم ایمنی

ارجاع: سمبلستانی آتناسادات، شفیعی رسول، ربانی خوراسگانی محمد. **پاراپروبیوتیک‌ها: راه حلی برای خروج از مشکلات تولید و مصرف پروبیوتیک‌ها.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۴۶۸): ۱۴۱-۱۳۱

مقدمه

طبق تعریف سازمان بهداشت جهانی و سازمان غذا و داروی آمریکا، پروبیوتیک‌ها باکتری‌های زنده‌ای هستند که در صورت تجویز به میزان کافی، می‌توانند اثرات مثبتی بر روی سلامت انسان القا کنند. امروزه، باکتری‌های پروبیوتیک را به عنوان یک راه‌کار مؤثر در پیش‌گیری یا درمان برخی بیماری‌ها، نظیر اختلالات گوارشی و بیماری‌های آلرژیک یا التهابی می‌شناسند. لازمه‌ی بروز این ویژگی‌ها، زنده بودن باکتری است. انواعی از میکروارگانیسم‌ها به خصوص باکتری‌ها و مخمرها جهت پژوهش و تولید محصولات پروبیوتیک مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱). علاوه بر تهیه و مصرف باکتری‌های پروبیوتیک به صورت مکمل، آن‌ها را می‌توان به مواد غذایی سنتی، تخمیری و غیر تخمیری نظیر ماست، انواع نوشیدنی‌ها، شیرینی‌ها، تنقلات و غیره اضافه نمود (۱). به تازگی، امکان دست‌کاری ژنتیکی و ایجاد باکتری‌های پروبیوتیک نوترکیب با خواص بهبود یافته مطرح شده است (۲). این باکتری‌ها، می‌توانند خواص بسیار مفیدی مانند مهار بیوفیلم باکتری‌های بیماری‌زا را داشته باشند (۴-۳). همچنین، این دسته از باکتری‌ها می‌توانند به منظور بهبود زخم نیز استفاده شوند (۵).

مکانیسمی که اغلب منجر به تأثیر مثبت باکتری‌های پروبیوتیک می‌شود، مبتنی بر واکنش آن‌ها با میکروب‌ها (میکروب‌های بیماری‌زا و یا فلور میکروبی دستگاه گوارش) و یا ارتباط متقابل (Cross-talk) میان باکتری‌های پروبیوتیک با سلول‌های میزبان است. تأثیر اول به طور معمول به زنده بودن باکتری‌های پروبیوتیک وابسته است؛ چرا که رقابت (بر سر مواد غذایی یا اتصال)، مهار رشد میکروب‌ها (به واسطه‌ی تولید ترکیبات ضد میکروبی) یا تشدید رشد فلور میکروبی میزبان به واسطه‌ی همیاری (Proto-cooperation) تغذیه‌ای یا محیطی، در حالتی امکان‌پذیر است که سلول‌های پروبیوتیک زنده باشند (۷-۶، ۱). در مقابل، ارتباط با سلول‌های میزبان می‌تواند توسط سلول‌های غیر زنده هم رخ دهد؛ چرا که اساس آن، شناسایی برخی از اجزای سلول میکروبی یا محصولات آن‌ها توسط سلول میزبان است که در نهایت، می‌تواند به یک پاسخ ایمنی منجر شود (۶). بر مبنای تحقیقات بالینی، باکتری‌های پروبیوتیک ارتباط مؤثری با سیستم گوارشی موجودات زنده برقرار می‌کنند. همچنین، از طریق سیستم

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: رسول شفیعی
Email: ra.shafiei@gmail.com

درک حد نصاب (Quorum sensing)، می‌توانند جمعیت میکروارگانیسم‌های موجود در دستگاه گوارش را تنظیم و تعدیل کنند. از آن جایی که باکتری‌های ساکن دستگاه گوارش و نیز باکتری‌های پروبیوتیک نقش‌های متعددی نظیر تنظیم سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی، تنظیم فعالیت دستگاه گوارش، بقا و رشد سلول‌های اپیتلیالی و تولید برخی متابولیت‌ها از همه مهم‌تر رقابت با باکتری‌های بیماری‌زا را بازی می‌کنند. از این رو، لازم است میزان و نوع فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک مصرفی به طور کامل مشخص و تنظیم شده باشد (۸).

محصولات تخمیری مانند ماست، یکی از مهم‌ترین منابع باکتری‌های پروبیوتیک شامل گونه‌های Lactobacillus، Leuconostoc و غیره می‌باشد (۹). با این حال، روند تولید و عرضه‌ی پروبیوتیک‌ها در مواد غذایی و به شکل سلول‌های زنده که بتوانند پس از مصرف به حالت فعال درآیند، همیشه با مشکلاتی روبه‌رو بوده است؛ به صورتی که پروبیوتیک مصرف شده، تأثیر مورد نظر را نخواهد داشت. تحقیقات بسیار زیادی جهت ابداع یا بهینه‌سازی روش‌هایی برای حفظ بقای باکتری‌های پروبیوتیک انجام شده است. در طی سال‌های اخیر (و به طورعمده از سال ۲۰۱۰) توجه زیادی به استفاده از اشکال غیر زنده‌ی باکتری‌ها به عنوان جایگزین پروبیوتیک‌ها شده است. با توجه به این که اشکال غیر زنده‌ی باکتری‌ها در تعریف پروبیوتیک‌ها نمی‌گنجند، در سال ۲۰۱۱ برای اولین بار واژه‌ی «پاراپروبیوتیک» مطرح شد (۶).

پیشوند «پارا» با دو معنای «در کنار» و «غیر معمول» نشان دهنده‌ی شباهت عملکردی و در عین حال تفاوت در بقای پاراپروبیوتیک‌ها با پروبیوتیک‌ها است (۱۰). پاراپروبیوتیک‌ها سلول‌های کامل یا شکسته شده‌ی پروبیوتیک‌ها و یا عصاره‌ی خام سلولی است که هر گاه به صورت خوراکی یا موضعی در دز مناسب استفاده شوند، تأثیر مطلوبی بر انسان یا حیوان خواهند داشت. بر این اساس، مولکول‌های خالص شده از میکروب‌ها جزء پاراپروبیوتیک‌ها محسوب نمی‌شوند (۱۰). برای این اجزای سلول با خواص فیزیولوژیکی خاص، واژه‌ی «اجزای سلول‌های پروبیوتیکی» (Probiotical cell fragments یا PCFs) نیز استفاده شده است (۱۰).

در این مقاله‌ی مروری، سعی خواهد شد ضمن معرفی پاراپروبیوتیک‌ها و اجزای آن‌ها، تأثیر آن‌ها بر سلامتی انسان و روش‌های تولید آن‌ها نیز بر اساس آخرین یافته‌ها مورد بررسی قرار گیرد.

اجزای سلول‌های پروبیوتیکی و نقش آن‌ها در القای سیستم ایمنی

با استفاده از تکنیک جزء به جزء کردن سلول، می‌توان اجزای ساختاری سلول را از پروبیوتیک‌های معروف، جدا و خالص‌سازی کرد. پپتیدوگلیکان در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی وجود دارد. گیرنده‌های شناسایی کننده‌ی الگوهای حفاظت شده (Pattern recognition receptors یا PRRs) نظیر گیرنده‌های شبه Toll (Toll-like receptors) و پروتئین‌های متصل شونده به نوکلئوتیدها (Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors) اولین حسگرهای سیستم ایمنی ذاتی هستند که الگوهای مولکولی مرتبط با میکروب‌ها (Microbe-associated molecular patterns) نظیر پپتیدوگلیکان یا لیپوپلی‌ساکارید را شناسایی می‌نمایند. در اصل، پپتیدوگلیکان‌ها و لیپوپلی‌ساکاریدها دارای اثرات نامطلوبی هستند. با این حال، حتی کوچک‌ترین تغییرات شیمیایی در ساختار آن‌ها می‌تواند تأثیرات ایمونولوژیک متفاوتی ایجاد کند. به عنوان مثال، باکتری Escherichia coli Nissle 1917 که تنها باکتری پروبیوتیک گرم منفی تأیید شده در اروپا می‌باشد و دارای جهشی در یکی از ژن‌های پلیمریزه کننده‌ی آنتی‌ژن O است که بیماری‌زایی این باکتری را به شدت کاهش می‌دهد؛ به طوری که از زمان‌های گذشته تا کنون به عنوان یک پروبیوتیک خوراکی مورد استفاده قرار گرفته است (۶).

تیکوئیک اسید، جزء دیگری از دیواره‌ی سلولی است که شامل واحدهای تکراری پلی‌ریبیتول فسفات یا پلی‌گلیسرول فسفات است. از دو نوع تیکوئیک اسید موجود در دیواره‌ی سلول، فقط لیپوتیکوئیک اسید دارای خاصیت ایمونوژنیک بوده است و به عنوان عامل اصلی جهت القای اینترلوکین-۱۰ شناخته می‌شود. مشخص شده است که باکتری‌های پروبیوتیک گرم مثبت و نیز کومنسال موجود در دستگاه گوارش از طریق تیکوئیک اسید باعث تعدیل واکنش ایمنی نسبت به میکروارگانیسم‌ها می‌شوند و بنابراین، از ایجاد واکنش‌های التهابی افراطی جلوگیری می‌نمایند (۶).

برخی پروتئین‌های سلولی نیز می‌توانند موجب القای واکنش‌های سیستم ایمنی شوند. Lactobacillusها می‌توانند از طریق لایه‌ی سطحی موسوم به لایه‌ی S (S-Layer) که از جنس پروتئین یا گلیکوپروتئین است، با سلول‌های میزبان ارتباط برقرار کنند و موجب القای پاسخ‌های مناسب در برابر میکروب‌های بیماری‌زا شوند (۱۱). در نوعی محصول پروبیوتیک تجاری که حاوی Lactobacillus acidophilus است، لایه‌ی سطحی به طور اساسی از یک پروتئین موسوم به SlpA ساخته شده است که توسط ماکروفاژها و سلول‌های دندریتی شناسایی می‌شود. ثابت شده است که این پروتئین، برای فعال شدن لنفوسیت‌های T تولید کننده‌ی اینترلوکین-۴، بسیار ضروری است (۱۱).

موتیف‌های ایمونوژنیک DNA نیز می‌توانند موجب القای ترشح ایمونوگلوبولین‌ها و تکثیر سلول‌های نوع B شوند. به علاوه،

موتیف‌های DNA ژنومی باکتری‌های لاکتیک اسید، خواص ایمونوبیوتیک دارند؛ یعنی موجب القای واکنش‌های سیستم ایمنی در بافت‌های لنفوئیدی دستگاه گوارش (Gut-associated lymphoid tissue یا GALT) می‌شوند. تحریک لنفوسیت‌های B توسط دی‌نوکلئوتید سیتوزین–گوانوزین (Cytosine-phosphate-guanine یا CpG) غیر متیله شده مشتق شده از باکتری‌ها، اثبات شده است. ژنوم Bifidobacteriumها تأثیرات ایمونولوژیک وسیعی بر روی میزبان دارد. دلیل این امر، به احتمال زیاد درصد بسیار بالای GC (حدود ۶۱–۵۸ درصد) و در نتیجه، وجود تعداد زیادی موتیف CpG است. نکته‌ی جالب توجه در این مورد، واکنش‌های ایمونولوژیک متفاوتی است که ژنوم سویه‌های مختلف Bifidobacterium ایجاد می‌نماید. دلیل این امر، به احتمال زیاد وجود سیستم‌های متنوع پردازش DNA است که بر پروفایل متیله شدن ژنوم تأثیر می‌گذارد و در نهایت، درصد CpG غیر متیله متفاوت خواهد بود. موتیف‌های DNA که محرک سیستم ایمنی هستند، موجب القای Interferon alpha (INF-α) و Interferon gamma (INF-γ) می‌شوند و فعال کننده‌ی قوی برای سلول‌های کشنده‌ی طبیعی می‌باشند (۶).

از بین پلی‌ساکاریدهای سلولی یعنی اگزوپلی‌ساکاریدها، پلی‌ساکاریدهای کپسولی و پلی‌ساکاریدهای دیواره‌ی سلول، تنها پلی‌ساکاریدهای دیواره و اگزوپلی‌ساکاریدها، ایمونوژن می‌باشند (۶).

بر اساس آن چه توضیح داده شد، از بین اجزای سلول، مورامیل پپتید، مورامیل دی‌پپتید، مورامیل تری‌پپتید، لیپوتیکوئیک اسید، پلی‌ساکاریدهای دیواره‌ی سلول و اگزوپلی‌ساکاریدها ایمونوژن می‌باشند و می‌توانند از طریق تعامل با پذیرنده‌های شناسایی الگوی مربوط به سلول‌های اپیتلیالی و نیز سلول‌های ایمنی موکوسی موجب تعدیل و تنظیم سیستم ایمنی موکوسی شوند (۶، ۱).

با وجود آن چه تا به حال در زمینه‌ی مکانیسم عملکردی پاراپروبیوتیک‌ها کشف شده است، هنوز بسیاری از مسیرهای القای سیستم ایمنی توسط آن‌ها ناشناخته باقی مانده است. از دیگر مشکلات در زمینه‌ی مطالعه‌ی پاراپروبیوتیک‌ها، عدم اطلاع پژوهشگر از وجود ناخالصی در اجزای سلولی مورد مطالعه و ارتباط واکنش‌های سیستم ایمنی به اجزای خالص است. از این رو، اطمینان کامل از خالص بودن اجزا برای تفسیر نتایج الزامی است (۶).

مشکلات مربوط به استفاده از باکتری‌های زنده

امروزه، استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک نظیر روش‌های حفظ سلامت به حساب می‌آید. با این حال، به دو دلیل عمده، استفاده از آن‌ها دارای محدودیت‌هایی است:

۱. از جمله مشکلات مربوط به استفاده از پروبیوتیک‌ها، ماهیت زنده بودن آن‌ها می‌باشد. تجویز باکتری‌های پروبیوتیک زنده برای افراد با شرایط سنی و جسمی گوناگون، همیشه و به طور یکسان با اثرات مثبت همراه نیست. باکتری‌های زنده در بیمارانی با سیستم ایمنی ضعیف شده، نقشی بسیار متضاد ایفا می‌نمایند و می‌توانند خطرآفرین باشند. از جمله‌ی این موارد، می‌توان به افراد مبتلا به بیماری Crohn اشاره نمود (۱۲). تأثیر معکوس پروبیوتیک‌ها در افراد سالخورده و نوزادانی که هنوز سیستم ایمنی تکامل یافته‌ای ندارند نیز مشاهده شده است (۱۶–۱۳).

از دیگر مسایل مطرح شده در مورد پروبیوتیک‌های زنده، بروز مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و امکان انتقال ژن‌های مقاومت به باکتری‌های بیماری‌زای وارد شده به روده‌ی انسان است. از آن جایی که در میکروبیوم روده‌ی انسان، باکتری‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب نیز وجود دارند، کسب مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این باکتری‌ها، می‌تواند مشکل‌آفرین باشد (۱۷). شواهدی وجود دارد که باکتری‌های دخیل در فرایند تولید مواد غذایی نیز می‌توانند منشأ مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها شوند (۱۸). Bifidobacteriumها به عنوان یک دسته‌ی مهم از پروبیوتیک‌ها شناخته می‌شوند که به طور ذاتی به طیفی از آنتی‌بیوتیک‌ها مانند استرپتومایسین مقاوم هستند (۱۹). مطالعه‌ی پروفایل مقاومت این باکتری نشان داده است که این باکتری‌ها در نوزادان حساسیت بیشتری به آنتی‌بیوتیک در مقایسه با گروه‌های سنی بالاتر دارند (۲۰).

۲. مشکل مهم دیگر، مربوط به فرایند تولید و نگهداری باکتری‌های زنده (Viable) و دارای عملکرد (Vital) است (۱). عمده‌ی پروبیوتیک‌های استفاده شده از خانواده‌ی Lactobacillaceae هستند که غیر اسپورزا می‌باشند و در شرایط نامساعد محیطی، آسیب می‌بینند و به مرور زمان و طی نگهداری، کارایی خود را از دست می‌دهند (۲۱). از طرف دیگر، امکان فراهم کردن زنجیره‌ی سرما در طی مسیر حمل و نقل، اغلب نیاز به صرف هزینه‌های زیاد دارد (۲۲). استفاده از برخی غذاها (نظیر محصولات لبنی یا نوشیدنی‌ها) به عنوان یک حامل پروبیوتیک و همچنین، استفاده از روش‌های مختلف به منظور پایدارسازی این باکتری‌ها (۲۳) برای حفظ بقای سلول‌ها رایج است (۲۴، ۱). با این حال، به دلیل برهم‌کنش میکروارگانیسم‌های زنده و محیط، این راه حل نیز با مشکلاتی روبه‌رو است (۲۵، ۱). به عنوان مثال، اکسیژن موجود در محیط موجب تنش اکسیداتیو برای سلول‌ها می‌گردد (۲۶) و همچنین، باکتری‌های پروبیوتیک زنده و فعال با تولید متابولیت‌هایی نظیر اسید لاکتیک در محصولات لبنی می‌تواند اثراتی منفی بر ساختار محصول و حتی سلول‌های پروبیوتیک بگذارد (۲۷).

با توجه به مطالب گفته شده، راه‌کارهای متفاوتی در طی سال‌های

اخیر به منظور مرتفع کردن مشکلات پیش‌گفته پیشنهاد شده است که از مؤثرترین آن‌ها، استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها می‌باشد (۱).

روش‌های غیر فعال کردن پروبیوتیک‌ها

روش‌های مختلفی جهت غیر فعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها و تولید پاراپروبیوتیک‌ها استفاده می‌شود؛ اما در این مقاله، روش‌های به کار گرفته شده در زمینه‌ی فرمولاسیون محصولات غذایی مبنای عمل است.

استفاده از حرارت: استفاده از حرارت، رایج‌ترین روش برای غیر فعال کردن میکروارگانیسم‌ها است. در این بین، پاستوریزه و استریل کردن از اهمیت بیشتری برخوردار هستند. تأثیر تیمار حرارتی بر میکروارگانیسم‌ها به عوامل متعددی نظیر نوع سلول، فرم رویشی یا اسپور، شرایط فیزیکی و شیمیایی محیط کشت، مرحله‌ی رشد، مواجهه‌ی قبلی با تنش، فعالیت آب و روش حرارت دادن و غیره بستگی دارد. محدوده‌ی دمایی استفاده شده برای تولید پاراپروبیوتیک‌ها متنوع بوده است (جدول ۱) (۳۰-۲۸).

جدول ۱. روش‌های مختلف غیر فعال کردن میکروارگانیسم‌ها و کاربرد آن‌ها در زمینه‌ی تولید پاراپروبیوتیک‌ها

روش غیر فعال سازی	مکانیسم اثر	نمونه‌ی پژوهش‌های انجام شده و اثر آن‌ها	ملاحظات
استفاده از حرارت	دناتوره شدن پروتئین‌ها، آسیب به غشاهای سلول، تغییر تعادل یونی و غذایی سلول، تجزیه شدن RNA	*Bacillus pumilus*، غیر فعال شده در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۶۰ دقیقه: موجب مهار باکتری‌های بیماری‌زای روده‌ی ماهی می‌شود (۳۰). *Leuconostoc mesenteroides*، غیر فعال شده در ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه: موجب جلوگیری از تهاجم *Listeria monocytogenes* و عفونت دستگاه گوارش در موش می‌شود (۳۱). شیر تخمیر شده حاوی *Lactobacillus gasseri* که در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه حرارت داده شد، موجب تنظیم فعالیت روده در افرادی شد که از مشکلات یبوست رنج می‌بردند (۲۲). مصرف روزانه‌ی نوشیدنی *Lactobacillus gasseri* غیر فعال شده و خشک شده، موجب بهبود عملکرد روده، افزایش تعداد *Bifidobacterium*های روده‌ای و کاهش *Clostridium* نوع IV شد (۳۲). مصرف روزانه‌ی نوشیدنی حاوی *Lactobacillus gasseri* غیر فعال شده (پاستوریزه شده) در دمای ۹۰ درجه‌ی سانتی‌گراد باعث بهبود کیفیت خواب، کاهش استرس، بهبود عملکرد اعصاب پاراسمپاتیک و کاهش میزان کورتیزول ترشحی در بزاق دانشجویان پزشکی که تحت فشار کاری بودند، گردید (۳۴-۳۳).	به توضیحات متن مراجعه شود.
استفاده از پرتوهای یونیزان و غیر یونیزان	دناتوره شدن پروتئین‌ها آسیب به اسیدهای نوکلئیک	*Lactobacillus rhamnosus* غیر فعال شده با پرتوهای فرابنفش، موجب جلوگیری از آنتروکولیت نکروز کننده در موش‌های تازه متولد شده می‌گردد (۳۵). *Lactobacillus rhamnosus* غیر فعال شده با پرتوهای فرابنفش موجب جلوگیری از آنتروکولیت نکروز دهنده در نوزادان می‌شود (۳۶). تولید اینترلوکین-۸ در پاسخ به فلاژلین در تیمار *Lactobacillus rhamnosus* تیمار شده با اشعه‌ی فرابنفش، کاهش می‌یابد (۳۷).	به توضیحات متن مراجعه شود.
استفاده از امواج فراصوت	آسیب به DNA، آسیب به دیواره‌ی سلولی و غشای سلول	*Bifidobacterium longum* در غلظت 10^{9}-10^{8} سلول در هر میلی‌لیتر و غیر فعال شده با امواج فراصوت، موجب کاهش کلسترول در موش‌ها می‌شود (۳۸).	این روش به طور معمول یکی از روش‌های آزمایشگاهی به منظور غیر فعال‌سازی باکتری‌ها به شمار می‌رود.
استفاده از ترکیبات شیمیایی	تأثیر بر شکل فضایی پروتئین‌ها	سویه‌های *Lactobacillus rhamnosus* و *Streptococcus thermophilus* غیر فعال شده با گرما و فرمالین موجب افزایش ترشح اینترلوکین-۶ و کاهش ترشح اینترلوکین-۸ میشود که این امر می‌تواند نکته‌ی مثبتی برای استفاده در افرادی با سیستم ایمنی ضعیف باشد (۳۹). تیمار *Lactobacillus rhamnosus* با عوامل تثبیت کننده می‌تواند منجر به افزایش اتصال این باکتری به سطوح روده شود (۴۰).	

شواهدی مبنی بر کاهش ظرفیت اتصال پاراپروبیوتیک‌های تحت تیمار حرارتی به سلول‌های میزبان وجود دارد (۱). موارد مطرح شده، در فرایند تولید پاراپروبیوتیک‌ها اهمیت دارند؛ چرا که در مواردی استفاده از دمای بالا برای تولید پاراپروبیوتیک‌ها، تأثیر به مراتب مثبت‌تری نسبت به دمای پایین‌تر داشته است (۴۱).

استفاده از پرتوها: از پرتوهای یونیزان نظیر پرتوهای گاما یا غیر یونیزان مانند پرتوهای فرابنفش، می‌توان جهت غیر فعال کردن سلول‌ها و تولید پاراپروبیوتیک‌ها استفاده نمود. تولید پاراپروبیوتیک‌ها با استفاده از پرتوهای یونیزان، با محدودیت‌هایی روبه‌رو است و مطالعاتی که بر مبنای آن باشد نیز محدود است. با این حال، نشان داده شده است که پاراپروبیوتیک‌های تولید شده با استفاده از پرتوهای گاما، حداقل دارای تأثیرات مشابه با پاراپروبیوتیک‌های تولید شده با تیمار حرارتی می‌باشند (۴۲، ۱). به عنوان مثال، استفاده از پرتوهای گاما، باعث کاهش اتصال گونه‌های مختلف Lactobacillus acidophilus و همچنین، افزایش قدرت اتصال Lactobacillus casei شده است. مزیت استفاده از پرتوهای فرابنفش نسبت به تیمار حرارتی یا استفاده از پرتوهای یونیزان، عدم تولید ترکیبات سمی و نیز عدم تأثیر بر خواص تغذیه‌ای و حسی (Sensory) ماده‌ی مورد نظر است (۱). به علاوه، استفاده از سلول‌های پروبیوتیک کشته شده با اشعه، می‌تواند منجر به کاهش پاسخ بیش از حد سیستم ایمنی به برخی آنتی‌ژن‌ها و نیز تعدیل سیستم ایمنی از طریق تعدیل فنوتیپ سلول‌های T کمک کننده شود (۳۷، ۴۳).

علاوه بر روش‌های پیش‌گفته، روش‌های مختلف دیگری نظیر استفاده از غلظت بحرانی دی‌اکسید کربن، فشار زیاد، میدان الکتریکی ضربانی و غیره نیز جهت غیر فعال نمودن سلول‌ها وجود دارد (۱). با این حال، همه‌ی این روش‌ها جهت تولید پاراپروبیوتیک‌ها استفاده نشده‌اند. در جدول ۱، روش‌های استفاده شده جهت تولید پاراپروبیوتیک‌ها خلاصه شده‌اند.

تأثیرات مثبت استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها بر سلامت

پژوهش‌های متعددی در رابطه با تأثیر مثبت پاراپروبیوتیک‌ها بر سلامتی وجود دارد (۱). در این قسمت، مهم‌ترین موضوعات مورد مطالعه، بررسی و مرور می‌شود:

مهار میکروب‌های بیماری‌زا: پاراپروبیوتیک‌ها نیز شبیه پروبیوتیک‌ها قادرند از میزبان خود در برابرعفونت‌های حاصل از میکروب‌های بیماری‌زا محافظت نمایند. طی پژوهشی، نشان داده شد که Bacillus subtilis و Lactobacillus delbrueckii تیمار شده با گرما، می‌توانند منجر به افزایش انفجار تنفسی (Respiratory burst) و همچنین، میزان پراکسیداز لکوسیت‌ها شوند که در نهایت، می‌تواند باعث حذف میکروب‌های بیماری‌زا شود (۴۴). پاراپروبیوتیک حاصل از Lactobacillus plantarum غیر فعال شده با حرارت، می‌تواند میزبان را در برابر عفونت سیستمی توسط Salmonella enterica محافظت نماید. به نظر می‌رسد پاراپروبیوتیک‌ها قادر به مهار تهاجم و اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به سلول‌های اپیتلیال می‌باشند (۱).

در پژوهش دیگری، جهت بررسی اثر پاراپروبیوتیک‌ها بر مهار رشد ویروس‌ها، مشاهده شد که مصرف خوراکی Lactobacillus غیر فعال شده، با افزایش پاسخ‌های ایمنی در روده و دستگاه تنفسی و نیز افزایش تیتر اینترفرون-β خون، موجب کاهش خطر ابتلای موش‌ها به ویروس آنفلوانزای H1N1 می‌شود (۴۵، ۴۱). علاوه بر این، خوراندن Lactobacillus acidophilus زنده و نیز فرم غیر فعال شده‌ی آن به موش‌های مبتلا شده با ویروس H1N1، در نتیجه‌ی فعالیت سلول‌های Natural killer (NK)، حذف ویروس را به طور محسوسی افزایش می‌دهد (۴۶).

همچنین، به تازگی مشاهده شده است که مصرف خوراکی پاراپروبیوتیک حاصل از Lactococcus lactis غیر فعال شده با حرارت، می‌تواند در افراد سالم واکنش‌های ضد ویروسی علیه ویروس آنفلوآنزا (A/H1N1 و A/H3N2) ایجاد نماید (۴۷).

استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها برای مبارزه با بیماری‌های موجودات دیگر نظیر آبزیان نیز استفاده شده است. در یک مطالعه، تأثیر Lactobacillus plantarum کشته شده با حرارت بر پارامترهای ایمنی گونه‌ای از میگوی آب شیرین بررسی شد. بر این اساس، مشخص شد که باکتری‌های کشته شده، می‌توانند توسط گیرنده‌های شناسایی کننده‌ی الگوی پاتوژن (Pathogen associated molecular pattern یا PAMPs) هوموسیت‌ها (سلول‌های جایگزین سلول‌های عادی سیستم ایمنی در سخت پوستان) شناسایی شوند و در نتیجه، میزان مرگ و میر میگوها ناشی از باکتری بیماری‌زای Aeromonas hydrophila کاهش محسوسی می‌یابد (۲۱).

کاهش عوارض پیری: در طی دهه‌های اخیر، به دلایل مختلف، بیماری‌های مرتبط با پیری افزایش یافته است. از جمله عوارض ناشی از فرایند پیری، اختلال در حافظه،کاهش پاسخ‌های ایمنی، افزایش پراکسیداسیون و کاهش تراکم استخوان است (۱). گزارش‌های محدود، اما رضایت‌بخشی در مورد تأثیر پاراپروبیوتیک‌ها بر تظاهرات پیری وجود دارد (۵۰-۴۸). به عنوان مثال، نشان داده شده است که مصرف پاراپروبیوتیک‌ها با تأثیر بر جمعیت استئوکلاست‌ها، بر بازسازی استخوان‌ها تأثیر می‌گذارد (۵۱). همچنین، مصرف خوراکی پاراپروبیوتیک‌ها، می‌تواند موجب تقویت سیستم ایمنی وابسته به سلول در موش‌ها شود. این امر، در نهایت باعث تغییر فرایند پیری

وابسته به سن در سیستم ایمنی می‌شود (۵۰). به علاوه، استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها با بهبود تعادل بین T helper1 (Th1) و Th2 می‌تواند موجب جلوگیری از بیماری‌های وابسته به سن شود (۱).

تأثیر بر عملکرد دستگاه گوارش: جمعیت میکروبی ساکن روده، نقش اساسی در فرایندهای متابولیک، تغذیه‌ای، فیزیولوژیک و ایمونولوژیک بدن انسان دارند (۵۲). در جدول ۲، نقش مثبت پاراپروبیوتیک‌ها در تعدیل جمعیت میکروبی روده، بهبود جراحات و آسیب‌های روده‌ای، حفظ سد روده‌ای، درمان اسهال و کاهش عدم تحمل به لاکتوز خلاصه شده است.

تأثیر بر دستگاه تنفس: پاراپروبیوتیک‌ها، می‌توانند بر درمان علایم و نشانه‌های بیماری‌های دستگاه تنفس نظیر التهاب آلرژیک مخاط بینی، سرما خوردگی، آسم و ذات‌الریه مؤثر باشند. مصرف خوراکی قطره‌ی پاراپروبیوتیک حاصل از Enterococcus faecalis غیر فعال شده با تعدیل پاسخ‌های ایمنی در خوکچه‌ی هندی مبتلا به التهاب آلرژیک مخاط بینی، موجب کاهش مؤثر عطسه و خارش بینی می‌شود. استفاده از این پاراپروبیوتیک‌ها، منجر به افزایش سلول‌های T تنظیمی ($CD4^+$ و $CD25^+$) در طحال و کاهش ورود ائوزینوفیل‌ها به مخاط می‌شود که این امر، در نهایت باعث سرکوب تولید Immunoglobulin E (IgE) و کاهش فعالیت ائوزینوفیل‌ها می‌گردد (۵۳).

در یک مطالعه بر روی افراد سالمند، مشخص شد که استفاده از پاراپروبیوتیک‌های حاصل از Lactobacillus pentosus همراه با فعالیت بدنی مطلوب، موجب افزایش IgA ترشحی در بزاق می‌شود (۵۴). همچنین، این امر می‌تواند جهت بهبود مقاومت سیستم ایمنی سالمندان نسبت به عفونت‌ها و در نتیجه، کاهش معنی‌دار ابتلا به سرماخوردگی مؤثر باشد (۵۵).

کاهش کلسترول: طبق گزارش انستیتوی قلب، ریه و خون، سکته‌ی قلبی یکی از علل اصلی مرگ در آمریکا به شمار می‌رود. عوامل متعددی موجب ایجاد این مشکل می‌شود؛ اما از مهم‌ترین آن‌ها، افزایش میزان کلسترول خون می‌باشد. Lactobacillus acidophilus زنده، می‌تواند کلسترول را در پوشش سلولی خود رسوب دهد (۵۶). این پدیده در باکتری‌های غیر فعال شده با گرما نیز مانند Lactococcus lactis مشاهده شده است. این امر به دلیل جذب کلسترول توسط پیکره‌ی سلول (به خصوص دیواره‌ی سلول) است. با این وجود، به علت آن که باکتری زنده مقداری از کلسترول را نیز در داخل سلول به دام می‌اندازد، میزان برداشت کلسترول در مواردی که از باکتری‌های زنده استفاده می‌شود، تا سه برابر بیشتر گزارش شده است (۵۷).

جدول ۲. تأثیر پاراپروبیوتیک‌ها بر اختلالات و بیماری‌های دستگاه گوارش

نحوه‌ی عملکرد پاراپروبیوتیک	علل و عوارض بیماری	مزیت استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها
تعدیل و کاهش تغییرات جمعیت میکروبی روده	جمعیت میکروبی روده می‌تواند در اثر مصرف بی‌رویه‌ی آنتی‌بیوتیک و همچنین، عفونت‌ها تغییر کند که این امر با تأثیر بر سایر اندام‌ها منجر به بیماری‌های مختلف می‌شود.	باکتری‌های پروبیوتیک می‌توانند جمعیت میکروبیوم روده را تعدیل و با میان‌کنش با آن‌ها، تولید برخی متابولیت‌ها را تسهیل کنند. Lactobacillus gasseri غیر فعال شده، موجب افزایش متابولیت‌های Clostridium نوع IV می‌شود. این باکتری می‌تواند اسیدهای چرب کوتاه زنجیره نظیر یون‌های استات تولید نماید (۵۸).
بهبود زخم‌های روده	التهاب و آسیب به بافت‌های روده در اثر عفونت یا استفاده از داروها و غیره رخ می‌دهد. کرون و کولیت زخمی، از جمله بیماری‌های التهابی روده می‌باشند.	مصرف پاراپروبیوتیک‌ها با القای پروتئین‌های شوک گرما و تنظیم ترشح (TNF-α) و برخی اینترلوکین‌ها، می‌تواند به روند بهبود کولیت کمک نماید (۶۰-۵۹، ۵۳).
سندرم روده‌ی تحریک‌پذیر	نوعی بیماری مزمن که با دردهای شکمی، احساس ناراحتی، نفخ، اسهال و یا یبوست و غیره همراه است.	Lactobacillus gasseri غیر فعال شده منجر به تخفیف التهاب در بیماری‌هایی مانند بیماری روده‌ی تحریک‌پذیر می‌شود (۶۲-۶۱).
درمان اسهال	عفونت‌های باکتریایی و ویروسی، مصرف آنتی‌بیوتیک و غیره باعث خروج بیش از حد مایعات به فرم اسهال از بدن می‌شود.	Lactobacillus casei غیر فعال شده توسط حرارت، منجر به کاهش زمان اسهال در نوزادان می‌شود؛ با این حال، استفاده از باکتری‌های زنده به علت تأثیر بیشتر، ترجیح داده می‌شود (۶۳).
کاهش عدم تحمل لاکتوز	کمبود آنزیم لاکتاز موجب اختلال در هضم و جذب لاکتوز می‌شود. به دنبال آن، تخمیر لاکتوز توسط فلور روده، موجب تولید مقدار زیادی گاز و اسید و در نهایت بروز عوارض گوارشی می‌شود.	مصرف پاراپروبیوتیک موجب کاهش علایم عدم تحمل لاکتوز در کودکان شده است (۶۴).

مهار رشد سلول‌های سرطانی: خاصیت ضد تومور یکی از ویژگی‌های مهم باکتری‌های پروبیوتیک است که توجه بسیاری را به خود جلب کرده است (۶۵). از جمله مزایای استفاده از پروبیوتیک‌ها نسبت به درمان‌های رایج سرطان، کاهش اثرات جانبی بر روی سیستم عمومی بدن می‌باشد (۶۶). بیشتر مطالعات انجام شده، بر روی پروبیوتیک‌ها متمرکز شده‌اند. با این حال، به تازگی تأثیر فرم غیر فعال شده‌ی این باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. پروبیوتیک‌ها، می‌توانند با تأثیر بر تنظیم سیتوکاین‌های ترشحی، برخی بیماری‌ها نظیر سرطان را کنترل نمایند. اینترلوکین-۸ از سیتوکاین‌های کلیدی است که افزایش آن از راه‌های مختلف، می‌تواند مشکلاتی را برای بدن ایجاد کند (۶۸-۶۷).

در مطالعه‌ی Zhang و همکاران، اثرات استفاده از Lactobacillus rhamnosus غیر فعال شده با حرارت و همتای زنده‌ی آن بر رده‌ی سلولی Caco-2 (رده‌ی سلولی مورد استفاده برای مطالعه‌ی شرایط روده‌ای انسان و همین طور سد فیزیکی مخاطی روده)، مورد بررسی قرار گرفت. مشخص شد که کاهش و یا افزایش تولید اینترلوکین-۸ به عنوان یکی از واسطه‌های التهابی، وابسته به تعداد باکتری‌های زنده است، اما باکتری‌های غیر فعال شده بدون توجه به تعداد، باعث افزایش ناچیز اینترلوکین-۸ می‌شوند. بر این اساس، استفاده از باکتری زنده، می‌تواند برای درمان التهاب مشکل‌ساز شود. از این رو، بیماران می‌توانند با اطمینان بیشتری از باکتری‌های غیر زنده به عنوان درمان کمکی استفاده نمایند (۶۹).

به تازگی نیز از چهار سویه‌ی Lactobacillus غیر فعال شده با حرارت، جهت بررسی میزان تغییرات مربوط به تومور القا شده در موش استفاده شد. در نهایت شگفتی، باکتری‌های کشته شده نسبت به باکتری‌های زنده، میزان سرکوب تومور بیشتری از خود نشان دادند (۷۰).

تأثیر بر آلرژی: تأثیر پروبیوتیک‌ها روی آلرژی، از سال‌ها پیش به اثبات رسیده است. این باکتری‌ها، با تغییر پاسخ سلول‌های T کمکی به سمت Th-2 این عمل را انجام می‌دهند (۷۲-۷۱). با این وجود، شواهد پیرامون استفاده از فرم‌های غیر فعال شده‌ی این باکتری‌ها بسیار محدود است. در مطالعه‌ای که بر روی باکتری‌های Lactobacillus casei و Lactobacillus paracasei انجام شد، مشخص گردید که پارامترهای مربوط به سلول‌های Th-1 مانند (TGF-β) و (IFN-γ) افزایش یافته است؛ در حالی که تغییر سیتوکاین مرتبط با پاسخ‌های Th-2 مانند اینترلوکین-۵ در این بررسی محسوس نبود. به عبارت دیگر، افزایش $TGF\text{-}\beta_1$ می‌تواند به عنوان تنظیم کننده‌ی تعادل بین جمعیت سلول‌های Th-1 و Th-2 عمل کند. این راه‌کار، از این جهت که می‌توان از باکتری‌های غیر فعال شده، بدون تشدید آلرژی استفاده کرد، مورد توجه است (۷۳). در تحقیقی که پیرامون تأثیر باکتری Lactobacillus paracasei غیر فعال شده با حرارت، بر روی افراد دارای رنیت آلرژیک (Allergic rhinitis) انجام شد، مشخص گردید که تأثیر این تیمار روی بهبود علایم بیماری مشابه موارد تیمار شده با باکتری زنده است. در نتیجه، به دلیل آسان بودن حمل و نقل و همچنین، هزینه‌ی کمتر تولید، استفاده از آن‌ها به عنوان تعدیل کننده‌ی آلرژی، امری منطقی است (۷۴).

نمونه‌های تجاری پاراپروبیوتیک‌ها

بسیاری از تیمارهایی که در متن این مقاله به آن‌ها اشاره شد و جهت غیر فعال نمودن میکروب‌ها استفاده شده‌اند، تنها در آزمایشگاه بررسی شده‌اند و انجام اغلب آن‌ها در مقیاس صنعتی با محدودیت‌هایی روبه‌رو است. در این میان، برخی از شرکت‌ها به صورت تجاری اقدام به ساخت محصولات پاراپروبیوتیک با باکتری‌های غیر فعال شده کرده‌اند. مثال بارز این نمونه شرکت‌ها، شرکت فرانسوی Lacteol است که نوعی کپسول به نام تجاری Lacteol Fort تولید نموده است که در درمان نشانه‌های اسهال مزمن مؤثر بوده است (۱). تأثیر مثبت محصول همچنین در درمان اسهال‌های ویروسی و باکتریایی و کاهش طول مدت بیماری به اثبات رسیده است (۷۵).

نتیجه‌گیری

امروزه، استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک جهت درمان یا پیش‌گیری از بیماری‌ها، رشد قابل توجهی داشته است. با این حال، استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها در مواد غذایی نسبت به پروبیوتیک‌ها دارای مزایایی است از جمله این که استفاده از فرم غیر فعال شده‌ی میکروارگانیسم‌ها، زمینه را برای استفاده از باکتری‌های متعددی نظیر باکتری‌هایی که به طور ذاتی در دسته‌ی پروبیوتیک‌ها قرار نمی‌گیرند، فراهم می‌کند. همچنین، واکنش بین اجزای ماده‌ی غذایی و پاراپروبیوتیک‌ها نسبت به پروبیوتیک‌ها ناچیز یا بسیارکم است که تأثیر بسیار زیادی در افزایش ماندگاری ماده‌ی غذایی دارد (۱). از طرف دیگر، پاراپروبیوتیک‌ها نسبت به دما حساسیت کمتری دارند. بنابراین، بدون نگرانی از کاهش فعالیت، می‌توان آن‌ها را در طی مراحل تولید یک ماده‌ی غذایی استفاده نمود و نیز انبارداری و حمل آن‌ها بسیار راحت‌تر است (۷۶، ۱).

با این حال، هنوز ابهامات و سؤالات زیادی پیرامون استفاده از پاراپروبیوتیک‌ها وجود دارد. از جمله این که در بسیاری از پژوهش‌ها، تنها تأثیر پاراپروبیوتیک‌ها بر کشت سلولی، حیوانات یا انسان سنجیده شده است. در حالی که برای تأیید و مقایسه‌ی تأثیر مثبت، لازم است میکروارگانیسم زنده (پروبیوتیک) نیز در همان سیستم، موردآزمایش قرار گیرد (۱). همچنین، روش‌های متعددی

جهت تعیین ماندگاری پروبیوتیک‌ها وجود دارد. بنابراین، لازم است که روش‌های استاندارد جهت تعیین میزان فعالیت و ماندگاری پاراپروبیوتیک‌ها تدوین شود (۱). در تحقیقات موجود، تأثیر پاراپروبیوتیک‌ها بر روی بافت روده‌ای انسان مطالعه نشده است. لازم است تأثیر تیمارهای غیر فعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها بر بافت‌های دستگاه گوارش نیز بررسی شود (۱).

تشکر و قدردانی

این مقاله بدون هیچ‌گونه حمایت مالی و با هزینه‌ی نویسندگان انجام شده است.

References

1. de Almada CN, Almada CN, Martinez RCR, Sant'Ana AS. Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. Trends Food Sci Technol 2016; 58: 96-114.
2. Rabbani Khorasgani M, Mansouri Tehrani H. Overview of recombinant probiotics. Genetics in the 3rd Millennium 2013; 11(4): 3326-37. [In Persian].
3. Shokri D, Khorasgani MR, Mohkam M, Fatemi SM, Ghasemi Y, Taheri-Kafrani A. The inhibition effect of lactobacilli against growth and biofilm formation of Pseudomonas aeruginosa. Probiotics Antimicrob Proteins 2018; 10(1): 34-42.
4. Golnari Maranni M, Rabbani Khourasgani M, Asadollahi M A, Shafiei R. Evaluation of Antimicrobial activity of bacillus strains isolated from various resources. J Arak Univ Med Sci 2017; 19(11): 68-78. [In Persian].
5. Ahmadi Majd S, Khorasgani M, Emami SH, Talebi A, Mohammadi Gholami A. Study of diabetic cutaneous wound healing in rats treated with Lactobacillus casei and its exopolysaccharide. Int J Adv Biotechnol Res 2016; 7(3): 2083-92.
6. Taverniti V, Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). Genes Nutr 2011; 6(3): 261-74.
7. Bermudez-Brito M, Plaza-Diaz J, Munoz-Quezada S, Gomez-Llorente C, Gil A. Probiotic mechanisms of action. Ann Nutr Metab 2012; 61(2): 160-74.
8. Bienenstock J, Gibson G, Klaenhammer TR, Walker WA, Neish AS. New insights into probiotic mechanisms: a harvest from functional and metagenomic studies. Gut Microbes 2013; 4(2): 94-100.
9. Rabbani Khorasgani M, Shafiei R. Traditional yogurt as a source of lactobacilli and other lactic acid bacteria in Iran. In: Shah NP, editor. Yogurt in health and disease prevention. Cambridge, MA: Academic Press; 2017. p. 285-94.
10. Shigwedha N, Sichel L, Jia L, Zhang L. Probiotical cell fragments (PCFs) as "Novel Nutraceutical Ingredients". J Biosci Med 2014; 2(3): 43-55.
11. Taverniti V, Stuknyte M, Minuzzo M, Arioli S, De Noni I, Scabiosi C, et al. S-layer protein mediates the stimulatory effect of Lactobacillus helveticus MIMLh5 on innate immunity. Appl Environ Microbiol 2013; 79(4): 1221-31.
12. Sartor RB. Review article: the potential mechanisms of action of rifaximin in the management of inflammatory bowel diseases. Aliment Pharmacol Ther 2016; 43(Suppl 1): 27-36.
13. Doern CD, Nguyen ST, Afolabi F, Burnham CA. Probiotic-associated aspiration pneumonia due to Lactobacillus rhamnosus. J Clin Microbiol 2014; 52(8): 3124-6.
14. Sadowska-Krawczenko I, Paprzycka M, Korbal P, Wiatrzyk A, Krysztopa-Grzybowska K, Polak M, et al. Lactobacillus rhamnosus GG suspected infection in a newborn with intrauterine growth restriction. Benef Microbes 2014; 5(4): 397-402.
15. Oggioni MR, Pozzi G, Valensin PE, Galieni P, Bigazzi C. Recurrent septicemia in an immunocompromised patient due to probiotic strains of Bacillus subtilis. J Clin Microbiol 1998; 36(1): 325-6.
16. Resnik R. Intrauterine growth restriction. Obstet Gynecol 2002; 99(3): 490-6.
17. Ogier JC, Serror P. Safety assessment of dairy microorganisms: The Enterococcus genus. Int J Food Microbiol 2008; 126(3): 291-301.
18. Mathur S, Singh R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria--a review. Int J Food Microbiol 2005; 105(3): 281-95.
19. Gueimonde M, Sanchez B, Los Reyes-Gavilan Gd, Margolles A. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. Front Microbiol 2013; 4: 202.
20. Duranti S, Lugli GA, Mancabelli L, Turroni F, Milani C, Mangifesta M, et al. Prevalence of antibiotic resistance genes among human gut-derived bifidobacteria. Appl Environ Microbiol 2017; 83(3): e02894-16.
21. Dash G, Raman RP, Pani PK, Makesh M, Pradeep MA, Sen S. Evaluation of paraprobiotic applicability of Lactobacillus plantarum in improving the immune response and disease protection in giant freshwater prawn, Macrobrachium rosenbergii (de Man, 1879). Fish Shellfish Immunol 2015; 43(1): 167-74.
22. Sawada D, Sugawara T, Ishida Y, Aihara K, Aoki Y, Takehara I, et al. Effect of continuous ingestion of a beverage prepared with Lactobacillus gasseri CP2305 inactivated by heat treatment on the regulation of intestinal function. Food Research International 2016; 79: 33-9.
23. Sombolestani AS. Stabilization of lactic acid bacteria isolated from traditional Iranian dairy products and the study of the antimicrobial effects of milk peptides produced by them [MSc Thesis]. Isfahan, Iran: School of Sciences, University of Isfahan; 2017. [In Persian].
24. Shafiei R, Delvigne F, Babanezhad M, Thonart P. Evaluation of viability and growth of Acetobacter senegalensis under different stress conditions. Int J Food Microbiol 2013; 163(2-3): 204-13.

25. Shafiei R, Delvigne F, Thonart P. Flow-cytometric assessment of damages to Acetobacter senegalensis during freeze-drying process and storage. Acetic Acid Bacteria 2013; 2(1s): e10.
26. Shafiei R, Zarmehrkhorshid R, Bentaib A, Babanezhad M, Leprince P, Delvigne F, et al. The role of protein modifications in senescence of freeze-dried Acetobacter senegalensis during storage. Microb Cell Fact 2014; 13(1): 26.
27. Cruz AG, Castro WF, Faria JAF, Bolini HMA, Celeghini RMS, Raices RSL, et al. Stability of probiotic yogurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated storage. Food Research International 2013; 51(2): 723-8.
28. Kim JY, Park BK, Park HJ, Park YH, Kim BO, Pyo S. Atopic dermatitis-mitigating effects of new Lactobacillus strain, Lactobacillus sakei probio 65 isolated from Kimchi. J Appl Microbiol 2013; 115(2): 517-26.
29. Zeng J, Jiang J, Zhu W, Chu Y. Heat-killed yogurt-containing lactic acid bacteria prevent cytokine-induced barrier disruption in human intestinal Caco-2 cells. Ann Microbiol 2016; 66(1): 171-8.
30. Yang HL, Xia HQ, Ye YD, Zou WC, Sun YZ. Probiotic Bacillus pumilus SE5 shapes the intestinal microbiota and mucosal immunity in grouper Epinephelus coioides. Dis Aquat Organ 2014; 111(2): 119-27.
31. Nakamura S, Kuda T, An C, Kanno T, Takahashi H, Kimura B. Inhibitory effects of Leuconostoc mesenteroides 1RM3 isolated from narezushi, a fermented fish with rice, on Listeria monocytogenes infection to Caco-2 cells and A/J mice. Anaerobe 2012; 18(1): 19-24.
32. Sugawara T, Sawada D, Ishida Y, Aihara K, Aoki Y, Takehara I, et al. Regulatory effect of paraprobiotic Lactobacillus gasseri CP2305 on gut environment and function. Microb Ecol Health Dis 2016; 27: 30259.
33. Nishida K, Sawada D, Kuwano Y, Tanaka H, Sugawara T, Aoki Y, et al. Daily administration of paraprobiotic Lactobacillus gasseri CP2305 ameliorates chronic stress-associated symptoms in Japanese medical students. J Funct Foods 2017; 36: 112-21.
34. Sawada D, Kawai T, Nishida K, Kuwano Y, Fujiwara S, Rokutan K. Daily intake of Lactobacillus gasseri CP2305 improves mental, physical, and sleep quality among Japanese medical students enrolled in a cadaver dissection course. J Funct Foods 2017; 31: 188-97.
35. Good M, Sodhi CP, Ozolek JA, Buck RH, Goehring KC, Thomas DL, et al. Lactobacillus rhamnosus HN001 decreases the severity of necrotizing enterocolitis in neonatal mice and preterm piglets: Evidence in mice for a role of TLR9. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2014; 306(11): G1021-G1032.
36. Awad H, Mokhtar H, Imam SS, Gad GI, Hafez H, Aboushady N. Comparison between killed and living probiotic usage versus placebo for the prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in neonates. Pak J Biol Sci 2010; 13(6): 253-62.
37. Lopez M, Li N, Kataria J, Russell M, Neu J. Live and ultraviolet-inactivated Lactobacillus rhamnosus GG decrease flagellin-induced interleukin-8 production in Caco-2 cells. J Nutr 2008; 138(11): 2264-8.
38. Shin HS, Park SY, Lee DK, Kim SA, An HM, Kim JR, et al. Hypocholesterolemic effect of sonication-killed Bifidobacterium longum isolated from healthy adult Koreans in high cholesterol fed rats. Arch Pharm Res 2010; 33(9): 1425-31.
39. Dehlink E, Domig KJ, Loibichler C, Kampl E, Eiwegger T, Georgopoulos A, et al. Heat- and formalin-inactivated probiotic bacteria induce comparable cytokine patterns in intestinal epithelial cell-leucocyte cocultures. J Food Prot 2007; 70(10): 2417-21.
40. Markowicz C, Kubiak P, Grajek W, Schmidt MT. Inactivation of Lactobacillus rhamnosus GG by fixation modifies its probiotic properties. Can J Microbiol 2016; 62(1): 72-82.
41. Kawase M, He F, Kubota A, Yoda K, Miyazawa K, Hiramatsu M. Heat-killed Lactobacillus gasseri TMC0356 protects mice against influenza virus infection by stimulating gut and respiratory immune responses. FEMS Immunol Med Microbiol 2012; 64(2): 280-8.
42. Kamiya T, Wang L, Forsythe P, Goettsche G, Mao Y, Wang Y, et al. Inhibitory effects of Lactobacillus reuteri on visceral pain induced by colorectal distension in Sprague-Dawley rats. Gut 2006; 55(2): 191-6.
43. van Hoffen E, Korthagen NM, de Kivit S, Schouten B, Bardoel B, Duivelshof A, et al. Exposure of intestinal epithelial cells to UV-killed Lactobacillus GG but not Bifidobacterium breve enhances the effector immune response in vitro. Int Arch Allergy Immunol 2010; 152(2): 159-68.
44. Salinas I, Diaz-Rosales P, Cuesta A, Meseguer J, Chabrillon M, Morinigo MA, et al. Effect of heat-inactivated fish and non-fish derived probiotics on the innate immune parameters of a teleost fish (Sparus aurata L.). Vet Immunol Immunopathol 2006; 111(3-4): 279-86.
45. Maeda N, Nakamura R, Hirose Y, Murosaki S, Yamamoto Y, Kase T, et al. Oral administration of heat-killed Lactobacillus plantarum L-137 enhances protection against influenza virus infection by stimulation of type I interferon production in mice. Int Immunopharmacol 2009; 9(9): 1122-5.
46. Goto H, Sagitani A, Ashida N, Kato S, Hirota T, Shinoda T, et al. Anti-influenza virus effects of both live and non-live Lactobacillus acidophilus L-92 accompanied by the activation of innate immunity. Br J Nutr 2013; 110(10): 1810-8.
47. Fujii T, Jounai K, Horie A, Takahashi H, Suzuki H, Ohshio K, et al. Effects of heat-killed Lactococcus lactis subsp. lactis JCM 5805 on mucosal and systemic immune parameters, and antiviral reactions to influenza virus in healthy adults; a randomized controlled double-blind study. J Funct Foods 2017; 35: 513-21.
48. Kawase M, He F, Miyazawa K, Kubota A, Yoda K, Hiramatsu M. Orally administered heat-killed Lactobacillus gasseri TMC0356 can upregulate cell-mediated immunity in senescence-accelerated mice. FEMS Microbiol Lett 2012; 326(2): 125-30.
49. Kimoto-Nira H, Mizumachi K, Okamoto T, Sasaki K, Kurisaki J. Influence of long-term consumption of a Lactococcus lactis strain on the intestinal immunity and intestinal flora of the senescence-accelerated

mouse. Br J Nutr 2009; 102(2): 181-5.
50. Miyazawa K, Kawase M, Kubota A, Yoda K, Harata G, Hosoda M, et al. Heat-killed Lactobacillus gasseri can enhance immunity in the elderly in a double-blind, placebo-controlled clinical study. Benef Microbes 2015; 6(4): 441-9.
51. Kimoto-Nira H, Suzuki C, Kobayashi M, Sasaki K, Kurisaki J, Mizumachi K. Anti-ageing effect of a lactococcal strain: Analysis using senescence-accelerated mice. Br J Nutr 2007; 98(6): 1178-86.
52. Shreiner AB, Kao JY, Young VB. The gut microbiome in health and in disease. Curr Opin Gastroenterol 2015; 31(1): 69-75.
53. Imaoka A, Shima T, Kato K, Mizuno S, Uehara T, Matsumoto S, et al. Anti-inflammatory activity of probiotic Bifidobacterium: enhancement of IL-10 production in peripheral blood mononuclear cells from ulcerative colitis patients and inhibition of IL-8 secretion in HT-29 cells. World J Gastroenterol 2008; 14(16): 2511-6.
54. Shimizu K, Sato H, Suga Y, Yamahira S, Toba M, Hamuro K, et al. The effects of Lactobacillus pentosus strain b240 and appropriate physical training on salivary secretory IgA levels in elderly adults with low physical fitness: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. J Clin Biochem Nutr 2014; 54(1): 61-6.
55. Shinkai S, Toba M, Saito T, Sato I, Tsubouchi M, Taira K, et al. Immunoprotective effects of oral intake of heat-killed Lactobacillus pentosus strain b240 in elderly adults: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Br J Nutr 2013; 109(10): 1856-65.
56. Noh DO, Kim SH, Gilliland SE. Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of Lactobacillus acidophilus ATCC 43121. J Dairy Sci 1997; 80(12): 3107-13.
57. Kimoto H, Ohmomo S, Okamoto T. Cholesterol removal from media by lactococci. J Dairy Sci 2002; 85(12): 3182-8.
58. Rios-Covian D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, Gueimonde M, de Los Reyes-Gavilan CG, Salazar N. Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. Front Microbiol 2016; 7: 185.
59. Ueno N, Fujiya M, Segawa S, Nata T, Moriichi K, Tanabe H, et al. Heat-killed body of lactobacillus brevis SBC8803 ameliorates intestinal injury in a murine model of colitis by enhancing the intestinal barrier function. Inflamm Bowel Dis 2011; 17(11): 2235-50.
60. Thakur BK, Saha P, Banik G, Saha DR, Grover S, Batish VK, et al. Live and heat-killed probiotic Lactobacillus casei Lbs2 protects from experimental colitis through Toll-like receptor 2-dependent induction of T-regulatory response. Int Immunopharmacol 2016; 36: 39-50.
61. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermudez-Humaran LG, Gratadoux JJ, et al. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-infl commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. Proc Natl Acad Sci USA 2008; 105(43): 16731-6.
62. Louis P, Scott KP, Duncan SH, Flint HJ. Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine. J Appl Microbiol 2007; 102(5): 1197-208.
63. Kaila M, Isolauri E, Saxelin M, Arvilommi H, Vesikari T. Viable versus inactivated lactobacillus strain GG in acute rotavirus diarrhoea. Arch Dis Child 1995; 72(1): 51-3.
64. Rampengan NH, Manoppo J, Warouw SM. Comparison of efficacies between live and killed probiotics in children with lactose malabsorption. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2010; 41(2): 474-81.
65. Rafter J. The effects of probiotics on colon cancer development. Nutr Res Rev 2004; 17(2): 277-84.
66. Mansouri-Tehrani HA, Rabbani-Khorasgani M, Hosseini SM, Mokarian F, Mahdavi H, Roayaei M. Effect of supplements: Probiotics and probiotic plus honey on blood cell counts and serum IgA in patients receiving pelvic radiotherapy. J Res Med Sci 2015; 20(7): 679-83.
67. Smith KR, Veranth JM, Hu AA, Lighty JS, Aust AE. Interleukin-8 levels in human lung epithelial cells are increased in response to coal fly ash and vary with the bioavailability of iron, as a function of particle size and source of coal. Chem Res Toxicol 2000; 13(2): 118-25.
68. Volpin G, Cohen M, Assaf M, Meir T, Katz R, Pollack S. Cytokine levels (IL-4, IL-6, IL-8 and TGFbeta) as potential biomarkers of systemic inflammatory response in trauma patients. Int Orthop 2014; 38(6): 1303-9.
69. Zhang L, Li N, Caicedo R, Neu J. Alive and dead Lactobacillus rhamnosus GG decrease tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-8 production in Caco-2 cells. J Nutr 2005; 135(7): 1752-6.
70. Shin R, Itoh Y, Kataoka M, Iino-Miura S, Miura R, Mizutani T, et al. Anti-tumor activity of heat-killed Lactobacillus plantarum BF-LP284 on Meth-A tumor cells in BALB/c mice. Int J Food Sci Nutr 2016; 67(6): 641-9.
71. Isolauri E. Probiotics in human disease. Am J Clin Nutr 2001; 73(6): 1142S-6S.
72. Cukrowska B, Motyl I, Kozakova H, Schwarzer M, Gorecki RK, Klewicka E, et al. Probiotic Lactobacillus strains: In vitro and in vivo studies. Folia Microbiol (Praha) 2009; 54(6): 533-7.
73. Cukrowska B, Rosiak I, Klewicka E, Motyl I, Schwarzer M, Libudzisz Z, et al. Impact of heat-inactivated Lactobacillus casei and Lactobacillus paracasei strains on cytokine responses in whole blood cell cultures of children with atopic dermatitis. Folia Microbiol (Praha) 2010; 55(3): 277-80.
74. Peng GC, Hsu CH. The efficacy and safety of heat-killed Lactobacillus paracasei for treatment of perennial allergic rhinitis induced by house-dust mite. Pediatr Allergy Immunol 2005; 16(5): 433-8.
75. Lievin-Le Moal V, Sarrazin-Davila LE, Servin AL. An experimental study and a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial to evaluate the antisecretory activity of Lactobacillus acidophilus strain LB against nonrotavirus diarrhea. Pediatrics 2007; 120(4): e795-e803.
76. Ou CC, Lin SL, Tsai JJ, Lin MY. Heat-killed lactic acid bacteria enhance immunomodulatory potential by skewing the immune response toward Th1 polarization. J Food Sci 2011; 76(5): M260-M267.

DOI: 10.22122/jims.v36i468.9055 Published by Vesnu Publications

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 36, No. 468, 4th Week, April 2018**

Received: 25.10.2017 Accepted: 04.12.2017 Published: 11.04.2018

Paraprobiotics: A Solution to Leave Problems of the Production and Consumption of Probiotics

Atena Sadat Sombolestani[1], Rasoul Shafiei[2], Mohammad Rabbani-Khorasgani[3]

Review Article

Abstract

Probiotics are one of the innovative, effective and accepted ways to mitigate acuteness, and to help cure some diseases at the present era. However, there are some limitations in manufacturing and using live bacteria. Paraprobiotics are of the new methods that can handle these problems at the large scale. They are defined as non-viable form of probiotics that can be utilized as intact or broken cells, and also as cell extract. Treatment of some diseases in human and animals has been demonstrated in case of using edible or topical application of paraprobiotics. In this review, after introducing paraprobiotics and their production techniques, their effects on human health is presented based on researches conducted during the past two decades, especially recent studies.

Keywords: Paraprobiotics, Probiotics, Immune system, Health

Citation: Sombolestani AS, Shafiei R, Rabbani-Khorasgani M. **Paraprobiotics: A Solution to Leave Problems of the Production and Consumption of Probiotics.** J Isfahan Med Sch 2018; 36(468): 131-41.

1- Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Rasoul Shafiei, Email: ra.shafiei@gmail.com