

โพรไบโอติกส์ : อนาคตของการกำจัดสารพิษจากโลหะหนัก

ภควดี พลังวชิรา ปร.ด.*

บทคัดย่อ

สารพิษจากสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโลหะหนักที่พบเจือปนในดิน น้ำ และอากาศ มีความเป็นพิษต่อมนุษย์ สัตว์ และพืช สารพิษเหล่านี้จะแพร่กระจายทั่วไปในสิ่งแวดล้อม และส่งผลกระทบต่อระบบต่าง ๆ ทางชีววิทยา ในระยะหลัง ได้มีกลยุทธ์ต่าง ๆ เพื่อลดการปนเปื้อนของโลหะหนัก แต่กลยุทธ์ส่วนใหญ่เหล่านี้มักมีค่าใช้จ่ายสูงและดูเหมือนจะไม่ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม โพรไบโอติกส์คือแบคทีเรียที่มีชีวิตซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ พบว่า *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* เป็น กลุ่มของโพรไบโอติกส์ที่สำคัญ อย่างไรก็ตาม *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Bacillus* และยีสต์บางจำพวก ก็ถูกจัดว่าเป็น โพรไบโอติกส์ด้วยเช่นกัน บทบาทสำคัญของโพรไบโอติกส์ต่อการรักษาสุขภาพของร่างกายเพิ่งได้รับการค้นพบเมื่อไม่นานมานี้ โดยพบว่าโพรไบโอติกส์มีความสามารถสูงในการจับกับสารเป้าหมายต่าง ๆ มากมายและจะถูกกำจัดออกไปพร้อมกับอุจจาระ สารเป้าหมายเหล่านี้ได้แก่ โลหะหนัก อะลูมิเนียม แคดเมียม ตะกั่ว หรือสารหนู บทความนี้ได้กล่าวถึงประวัติของโพรไบโอติกส์ บทบาทของโพรไบโอติกส์ในการกำจัดสารพิษจากโลหะหนักและกลไกการทำงานที่ในการปรับและควบคุมวิถีต่าง ๆ ซึ่งรบกวนเส้นทางของสัญญาณ (Signaling pathway) ที่เกี่ยวข้องกับโลหะหนักในระบบทางชีววิทยาของสิ่งมีชีวิต

คำสำคัญ : โพรไบโอติกส์, โลหะหนัก, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, อาหารฟังก์ชัน

Probiotics : Future Aspects of Heavy Metal Detoxification

Pakhawadee Palungwachira Ph.D.*

Abstract

Environmental toxins, especially heavy metals found in soil, water and air, are toxic to humans, animals and plants. These toxins are widespread in the environment and affect many biological systems. Recently, various strategies have been implemented to reduce heavy metal contamination. However, most of these strategies are costly and appear to be environmentally unsafe. Probiotics are live bacteria that are beneficial to human health. *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* were found to be important groups of probiotics. However, some group of *pediococcus*, *lactococcus*, *bacillus* and yeast are also classified as probiotics. The important role of probiotics in maintaining the health of the body has recently been discovered and recorded. It has been found that probiotics have a high ability to bind with our target substances and eliminate them with feces. These target substances include aluminum, cadmium, lead and arsenic. This review discusses the history of probiotics, the role of probiotics in the elimination of heavy metal and their mechanism of action in modulating and regulating different signaling pathways disturbances which involved in heavy metal accumulation in biological systems.

Keywords : Probiotics, Heavy metal, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, Functional food

* ภาควิชาเวชศาสตร์ฉุกเฉิน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

* Department of Emergency Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

บทนำ

ปัญหาหมักภาวะในสิ่งแวดล้อมมีความสำคัญเพิ่มมากขึ้น อันเป็นผลกระทบเนื่องมาจากการเจริญเติบโตทางอุตสาหกรรมอย่างรวดเร็ว ภาวะเป็นพิษทั้งทางน้ำและอาหารส่งผลกระทบต่อสมดุลในระบบนิเวศน์ สภาพแวดล้อมของมนุษย์และความ เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต โลหะหนักเป็นสารประกอบที่ไม่สามารถย่อยสลายได้และจะคงอยู่ในรูปของสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ โลหะหนักบางชนิดเช่น เหล็ก ทองแดง และสังกะสี เป็นแร่ธาตุ ปริมาณเล็กน้อยที่จำเป็นต่อร่างกาย แต่โลหะหนักบางชนิดเช่น แคดเมียม ตะกั่ว ปรอท ถูกจัดว่าเป็นพิษแม้จะพบในปริมาณเพียงเล็กน้อย¹⁻⁴ การสะสมโลหะหนักในอวัยวะของมนุษย์ส่งผลเสียต่อสุขภาพร่างกาย คุณสมบัติที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติของโลหะหนักจะมีผลต่อช่วงอายุเนื่องจากมันสามารถคงอยู่ได้ยาวนาน การปนเปื้อนของโลหะหนักในดินเป็นสาเหตุให้เกิดการกลายพันธุ์ของยีนส์และการเกิดมะเร็ง เพราะโลหะหนักเหล่านี้จะกลายเป็นส่วนหนึ่งในห่วงโซ่อาหารของมนุษย์^{5,6} กลยุทธ์ดั้งเดิมที่ใช้ในการกำจัดพิษโลหะหนักมักมีค่าใช้จ่ายสูง และมีผลข้างเคียงต่อสุขภาพในรูปแบบที่แตกต่างกัน⁷ ในปัจจุบันมีเทคนิคใหม่ซึ่งเกิดขึ้นและเป็นเทคนิคที่ราคาถูก คือการใช้โปรไบโอติกส์ในการขับโลหะหนักออกจากร่างกายโดยอาศัยกลไกทางชีวเคมี⁸

เนื้อเรื่อง

คำว่า โปรไบโอติกส์มาจากคำในภาษากรีกคือ pro bios ซึ่งมีความหมายว่า สำหรับ (เพื่อ) ชีวิต คำว่า probiotic ถูกนำมาใช้ครั้งแรกโดย Lilly และ Still ในปี ค.ศ.1965 โดยใช้อธิบายถึงสารที่ผลิตโดยจุลินทรีย์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตอื่น⁹ ในปี ค.ศ.1974 Parker ได้เสนอว่า โปรไบโอติกส์คือ จุลินทรีย์และสารที่เกี่ยวข้องซึ่งมีส่วนร่วมในสมดุลจุลินทรีย์ของระบบทางเดินอาหาร¹⁰ Salminen และคณะ¹¹ ให้คำนิยาม โปรไบโอติกส์ว่า เป็นชนิดของอาหารที่มีแบคทีเรียซึ่งเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของสิ่งมีชีวิต ขณะที่ Marteau และคณะ¹² ได้ให้นิยามโปรไบโอติกส์ว่าคือ การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ หรือ ส่วนประกอบของแบคทีเรียซึ่งมีประโยชน์ต่อการรักษาสุขภาพ ท้ายที่สุดโปรไบโอติกส์อาจใช้เป็นยารักษาโรคที่สำคัญเนื่องจากพบว่ามันมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคเกี่ยวกับกระเพาะและลำไส้บางชนิด¹³

สถาบันวิทยาศาสตร์ชีวภาพนานาชาติ (International Life Science Institute) ได้ให้คำจำกัดความโปรไบโอติกส์ว่าเป็นอาหารเสริมที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งช่วยรักษาสุขภาพของผู้รับประทานที่มันอาศัยอยู่ (Host)¹¹ โปรไบโอติกส์เป็นประเภทอาหารฟังก์ชันซึ่งถูกระบุว่ามีประโยชน์สำหรับการส่งเสริมสุขภาพและลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคในมนุษย์¹³

ในปี ค.ศ.2002 FAO และ WHO ได้ให้นิยามใหม่ของโปรไบโอติกส์ว่าเป็น จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งเมื่อให้ในปริมาณที่พอเหมาะจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้ที่ได้รับ^{14,15} ถึงแม้ว่าแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Propionibacterium*, และ *Streptococcus* จะถูกนำไปใช้ประโยชน์เป็นโปรไบโอติกส์¹¹ แต่พบว่าตัวที่มีประโยชน์มากที่สุดคือ *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria*¹⁶ การหมักแลคโต (lacto-fermentation) เป็นกระบวนการเมแทบอลิซึมแบบไม่ใช้ออกซิเจน 2 ขั้นตอน โดยจุลินทรีย์ *Lactobacillus* จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลอื่น ๆ ที่มีคาร์บอน 6 อะตอม ในอาหารให้กลายเป็นกรดแลคติก เพื่อทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่เป็นกรด อาหารหมักต้องจึงเป็นที่ทราบกันดีว่าช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด ช่วยเสริมภูมิคุ้มกันทาง ช่วยป้องกันเชื้อก่อโรค โรคกระดุกพรุณ โรคเบาหวาน โรคอ้วน โรคหลอดเลือดแดงแข็ง อาการแพ้ ต่อต้านการเกิดมะเร็ง และบรรเทาอาการแพ้แลคโตส¹⁶ การหมักอาหารสามารถสร้างเปปไทด์บางชนิดที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive peptide) โดยเป็นผลมาจากกระบวนการย่อยสลายโปรตีนของจุลินทรีย์^{17,18}

ในปัจจุบันได้ให้ความสำคัญเกี่ยวกับแหล่งที่มาของโลหะหนักและการสะสมทางชีวภาพในร่างกายมนุษย์ รวมทั้งกลไกที่นำไปสู่การเกิดพิษในอวัยวะต่าง ๆ ซึ่งแตกต่างกัน บทความนี้จะกล่าวถึงบทบาททางชีวภาพของโปรไบโอติกส์ในการกำจัดสารพิษโลหะหนักและอธิบายเกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์เดี่ยวหรือหลายสายพันธุ์ร่วมกันว่าจะมีบทบาทและมีศักยภาพในการกำจัดโลหะหนักและขับออกจากร่างกายได้อย่างไร

ลักษณะโปรไบโอติกส์ในอุดมคติ

โปรไบโอติกส์ที่ดีควรมีลักษณะเฉพาะ ดังนี้¹⁹

1. ให้ประโยชน์แก่ผู้ที่มันอาศัยอยู่โดยช่วยให้มนุษย์หรือสัตว์เจริญเติบโตและมีความทนทานต่อโรคต่าง ๆ มากขึ้น
2. ไม่ควรทำให้เกิดสารก่อโรคหรือสารพิษชนิดใด ๆ กับผู้ที่มันอาศัยอยู่
3. เป็นเซลล์ที่มีชีวิตและพบในปริมาณมาก
4. ต้องมีชีวิตรอดและสามารถเผาผลาญสารอาหารในสิ่งแวดล้อมของทางเดินอาหารที่มี pH ต่ำ มีกรดอินทรีย์ในทางเดินอาหาร และมีการหลั่งน้ำดี
5. ง่ายต่อการเก็บรักษา
6. ง่ายต่อการระบุคุณลักษณะเพื่อการทดสอบทางจุลชีววิทยาคลินิก
7. ควรมีแหล่งกำเนิดจากมนุษย์
8. มีความปลอดภัยและเกิดประโยชน์ต่อการใช้งานภายในร่างกาย

9. สามารถเกาะติดกับเนื้อเยื่อเป้าหมายและเซลล์เยื่อผิวลำไส้¹¹

10. มีความจำเพาะกับมนุษย์

กลไกความเป็นพิษของโลหะหนัก

โลหะหนักพบได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อม โลหะหนักส่วนใหญ่อยู่ในรูปของสินแร่ เช่น เหล็ก ทอง และเงิน ขณะที่โลหะอื่นบางชนิดจะอยู่ในรูปของออกไซด์ เช่น แมงกานีส อะลูมิเนียม โลหะหนักบางชนิด เช่นทองแดง เหล็ก โคบอลต์ สามารถอยู่ได้ 2 รูปแบบ คือในรูปสินแร่ซัลไฟด์ และออกไซด์ โดยประกอบด้วยโลหะหนักมากกว่า 1 ชนิดซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาทางเคมี การใช้โลหะหนักทางอุตสาหกรรมทำให้เกิดการปล่อยโลหะหนักสู่พื้นดิน อากาศ และน้ำ²⁰

เมื่อมนุษย์บริโภคอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนโลหะหนักเข้าไป สภาพแวดล้อมที่เป็นกรดในกระเพาะอาหารจะทำให้เหล่าโปรไบโอติกส์มีความเป็นกรดและทำให้เกิดการออกซิไดซ์เปลี่ยนสถานะไปอยู่ในภาวะออกซิเดทีฟต่าง ๆ (Oxidative คือปฏิกิริยาเคมีที่เกิดจากการรวมตัวของออกซิเจนกับสารอื่นเกิดเป็น Cd^{2+} , Zn^{2+} , As^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+ , Hg^{2+} และ As^{3+}) อนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถจับกับโมเลกุลชนิดต่าง ๆ ในระบบชีวภาพ เช่น โปรตีนและเอนไซม์ เกิดการสร้างพันธะที่เสถียรและแข็งแรง โลหะหนักส่วนใหญ่จะจับกับหมู่ฟังก์ชันไทโอ (หมู่ SH ของกรดอะมิโน cysteine และหมู่ SCH₃ ของกรดอะมิโน methionine) พบว่าแคดเมียมเป็นตัวอย่งที่ดีในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ thiol transferases ซึ่งได้แก่ Glutathione reductase, Thioredoxin, และ Thioredoxin reductase ในหลอดทดลองโดยการจับกับบริเวณซีสเทอีนส่วนที่เหลือ (cysteine residue)²⁰

โดยทั่วไปโลหะหนักจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระซึ่งก่อให้เกิดสภาวะเครียดจากออกซิเดชันและเหนี่ยวนำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ กลไกในการเกิดอนุมูลอิสระมีความจำเพาะแตกต่างกันไป ขึ้นกับชนิดของโลหะหนัก เหล็ก โครเมียม โคบอลต์ สารหนู โลหะเหล่านี้จะเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระ Hydroxyl radical (OH[•]) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่พบได้บ่อยที่สุดหลังจากการเกิดออกซิเดชันของโลหะหนัก²¹ อนุมูลอิสระจะโจมตีเยื่อหุ้มเซลล์ที่เป็นไขมัน เกิดเป็น Radical lipid จากนั้นจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่มีอะตอมของออกซิเจน 2 อะตอม (Dioxygen molecule) หรือไขมัน ปฏิกิริยานี้จะส่งเสริมให้เกิดความเสียหายต่อโมเลกุลของไขมันเพิ่มมากขึ้น และในที่สุดอนุมูล Radical lipid 2 โมเลกุลจะทำปฏิกิริยากับอนุมูล Peroxyl lipid radical 1 โมเลกุลเกิดเป็นโมเลกุลไขมันที่มีความเสถียร 1 โมเลกุล โดย Malondialdehyde ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ aldehyde ที่สำคัญของการบวนการ Lipid peroxidation ถูกใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ (biomarkers) ที่สำคัญที่สุดของการบวนการ Lipid

peroxidation นี้ โลหะหนักบางชนิด เช่น ทองแดงเกี่ยวข้องกับ การเกิดอนุมูลอิสระชนิดรีแอคทีฟออกซิเจน (reactive oxygen species)²² โลหะหนักบางชนิดทำให้เกิด Superoxide เช่น โคบอลต์²³ วานาเดียม²⁴ และสารหนู²⁵

โลหะหนักมีผลในการก่อมะเร็งโดยมุ่งเป้าไปที่โปรตีนซึ่งทำหน้าที่รับผิดชอบเกี่ยวกับกระบวนการต่าง ๆ เช่น กระบวนการตายของเซลล์แบบ Apoptosis การควบคุมวัฏจักรเซลล์ (Cell cycle regulation) กระบวนการเติมหมู่เมทิลในสายดีเอ็นเอ (DNA methylation) กระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ (DNA repair) การเจริญเติบโตของเซลล์ (Cell growth) และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพื่อทำหน้าที่เฉพาะ (Differentiation)²⁶⁻²⁸ โลหะหนักบางชนิดทำให้เกิดพิษต่อระบบประสาทโดยทำให้เกิดการลดลงของสารสื่อประสาทต่าง ๆ หรือเกิดการสะสมในไมโทคอนเดรียของเซลล์ประสาทซึ่งจะไปขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์ adenosine triphosphate (ATP)²⁹

ความสัมพันธ์ระหว่างโลหะหนักและจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร

โปรไบโอติกส์เป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรค ไม่เป็นพิษและเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการหมัก (Fermentative bacteria) โปรไบโอติกส์พบได้ในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ มากมาย เช่น อาหาร ยา และอาหารเสริม แบคทีเรีย *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* เป็นโปรไบโอติกส์ที่กล่าวถึงมากที่สุด โปรไบโอติกส์สายพันธุ์ต่าง ๆ ซึ่งพบอยู่ในทางเดินอาหารหรือที่ได้มาจากการเสริมในมื้ออาหารจะปรับเปลี่ยนองค์ประกอบของจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่เป็นอันตรายในทางเดินอาหาร^{30,31} หลายสายพันธุ์ของ *Lactobacillus* สามารถจับและกำจัดสารพิษโลหะหนักได้^{32,33} ปัจจุบันถือว่าโปรไบโอติกส์เป็นอนาคตสำคัญในการนำไปใช้บรรเทาความเป็นพิษที่เกิดจากโลหะหนัก^{34,35} นอกจากนี้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างโลหะหนักและจุลินทรีย์ทั้งหมดในระบบทางเดินอาหาร (gut microbiota) ก็ได้เป็นที่ทราบกันมาก่อนหน้านี้ว่าโลหะหนักจะเปลี่ยนเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารและส่งผลให้การทำงานของมันเปลี่ยนแปลงไป³⁶ ในทางตรงกันข้ามกลุ่มจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของมนุษย์ (gut microbiota) จะปรับเปลี่ยนการดูดซึมและกระบวนการเมแทบอลิซึมของโลหะหนัก โดยทำตัวเป็นสิ่งกีดขวางทางกายภาพ แก่ไขภาวะเครียดจากออกซิเดชันและการปรับ pH โดยกลุ่มจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารจะควบคุมเอนไซม์ที่ใช้กำจัดสารพิษหรือการแสดงออกของโปรตีน³⁷⁻⁴¹

โปรไบโอติกส์ใช้เป็นกลยุทธ์ในการป้องกันความเป็นพิษจากโลหะหนัก

การศึกษาในหลอดทดลองจำนวนมากพบประสิทธิภาพที่ยอดเยี่ยมของโปรไบโอติกส์ในการจับโลหะหนักนอกเหนือ

จากคุณสมบัติในการกำจัดสารพิษ รายงานก่อนหน้านี้นี้พบว่า โปรไบโอติกส์สามารถเกาะติดแน่นกับเยื่อเมือกลำไส้และมีความสามารถสูงในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน มีความทนทานต่อสารละลายและของเหลวในระบบทางเดินอาหารและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค^{32,33,42} *Lactobacillus plantarum* TW1-1 ได้ถูกนำมาใช้เพื่อต้านความเป็นพิษจากโครเมียม, โปรไบโอติกส์ *L. Plantarum* CCFM8610 และ *Bacillus cereus* ได้ถูกนำมาใช้ในการต้านพิษแคดเมียมก่อนหน้านี้อีกแล้วเช่นกัน^{41,43} เมื่อไม่นานมานี้ได้มีงานวิจัยกล่าวถึง *L. Plantarum* CCFM8661 และ *Lactobacillus reuteri* (*L. reuteri* P16) ในการกำจัดพิษสารตะกั่ว^{32,33} และ *Lactobacillus brevis* (*L. brevis* 23017) ได้ถูกนำมาใช้รักษาความเป็นพิษจากสารปรอท จุลินทรีย์สายพันธุ์เหล่านี้มีความสามารถในการเพิ่มการขับออกของโลหะหนักทางอุจจาระ และสามารถฟื้นฟูแก้ไขเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารที่เกิดผลกระทบจากพิษของโลหะหนัก⁴⁴ *L. Plantarum* CCFM8610 สามารถแก้ไขฟื้นฟูความเป็นพิษในปลาที่ได้รับพิษจากโลหะหนักแคดเมียม⁴¹ นอกจากนี้ *L. Plantarum* TW1-1 ยังสามารถยับยั้งการดูดซึมโครเมียมเข้าสู่ร่างกาย ทำให้โครเมียมละลายน้ำได้น้อยลงจึงทำให้โครเมียมมีโอกาสน้อยที่จะข้ามผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ในระบบทางเดินอาหาร⁴⁴ นอกจากนี้การทดลองให้ *L. Plantarum* CCFM8610 และ CCFM8661 ในหนูทดลอง (Mice) ยังสามารถขับโลหะหนักออกจากร่างกายผ่านทางสารคัดหลั่งน้ำดีของตับและเพิ่มการขับกรดน้ำดีในอุจจาระ ซึ่งส่งผลกระทบต่อตัวที่จะถูกขับออกไปพร้อมกันด้วย^{39,41} การศึกษาในมนุษย์ให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกัน โดยพบว่า การเสริมด้วยโยเกิร์ตที่มี *Lactobacillus rhamnosus* (*L. rhamnosus* GR-1) สามารถลดความเข้มข้นของโลหะหนักในหญิงตั้งครรภ์และเด็ก⁴⁵ รายงานก่อนหน้านี้นี้พบว่า *Lactobacillus* สามารถช่วยลดความเป็นพิษของโลหะหนักโดยการปรับเปลี่ยนการทำงานและองค์ประกอบของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร จนทำให้เกิดความหมายของคำว่า “การซ่อมเสริมและกำจัดสารปนเปื้อนในระบบทางเดินอาหาร” (gut remediation)^{44,46}

โปรไบโอติกส์ (Probiotics) รุ่นใหม่

Faecalibacterium prausnitzii (*F. prausnitzii*) คือ จุลินทรีย์ (microbiota) ในทางเดินอาหารของมนุษย์

ซึ่งทำหน้าที่ถอดรหัสพันธุกรรม (encode) เอนไซม์เมทิลทรานสเฟอเรส (methyltransferase) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการกำจัดพิษสารหนู⁴⁷ การเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ *F. prausnitzii* A2-165 ในปริมาณ 10^8 (Colony-Forming Units: CFU) ในช่องปากร่วมกับ *Escherichia coli*⁴⁸ สามารถช่วยป้องกันพิษจากสารหนู³⁴ เนื่องจากพบว่าเอนไซม์ที่ใช้กำจัดพิษสารหนูถูกผลิตเพิ่มมากขึ้นภายในร่างกาย ร่วมกับปัจจัยบางประการของจุลินทรีย์ (ไมโครไบโอม) ในทางเดินอาหาร *Akkermansia muciniphila* (*A. muciniphila*) นับได้ว่าเป็นโปรไบโอติกส์รุ่นใหม่ซึ่งเพิ่มประสิทธิภาพปกป้องระบบทางเดินอาหารให้แข็งแรงมากขึ้น และช่วยเพิ่มการผลิตสาร mucins ในลำไส้ใหญ่ส่วน colon⁴⁹ การให้ *A. muciniphila* ในปริมาณ 10^8 CFU จะช่วยเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้ของหนู (gut microbiota) ที่ได้รับสารแคดเมียม³⁵ *A. muciniphila* มีฤทธิ์อ่อนในการจับโลหะ หรือกำจัดพิษสารแคดเมียม นอกจากนั้นมันยังอาจมีความไวเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมภายในลำไส้ เช่น เมื่อได้รับสารแคดเมียม การอักเสบ ภาวะเครียดจากออกซิเดชันและชั้นเยื่อเมือกที่บางลง^{50,51} โดยทั่วไปจุลินทรีย์ในลำไส้มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อได้รับโลหะหนักแคดเมียม ซึ่งได้พิสูจน์ให้เห็นแล้วว่า การเสริมแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถช่วยลดความเป็นพิษจากสารแคดเมียม นอกจากนั้น การเสริม *F. prausnitzii* และ *O. ruminantium* ยังช่วยลดการดูดซึมและการสะสมของสารตะกั่วรวมทั้งเพิ่มการแสดงออกของโปรตีนไทด์จังก์ชัน (tight junction) ในลำไส้ได้อย่างมีนัยสำคัญ⁵² จากรายงานก่อนหน้านี้นี้ พบว่าบทบาทที่น่าจะเป็นไปได้ของสายพันธุ์โปรไบโอติกส์ในการลดพิษของโลหะหนัก เป็นผลมาจากคุณสมบัติ ดังต่อไปนี้

- (1) โปรไบโอติกส์มีความสามารถในการจับโลหะหนัก ทนทานต่อโลหะหนัก หรือกำจัดพิษโลหะหนัก
- (2) โปรไบโอติกส์มีความทนทานสูงต่อกรดและน้ำดี และยังคงสามารถออกฤทธิ์และมีชีวิตอยู่ได้ในระบบทางเดินอาหาร
- (3) โปรไบโอติกส์มีความสามารถในการยึดเกาะ เพิ่มจำนวน และตั้งรกรากภายในลำไส้
- (4) โปรไบโอติกส์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่แข็งแกร่ง และสามารถควบคุมการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 โปรไบโอติกส์ และความสามารถในการกำจัดพิษโลหะหนัก

สายพันธุ์โปรไบโอติกส์	บทบาทหน้าที่ในการกำจัดพิษโลหะหนัก	แหล่งอ้างอิง
<i>L. plantarum</i> TW1-1	ต้านความเป็นพิษของโครเมียม	32, 33, 42
<i>L. plantarum</i> CCFM8610 และ <i>Bacillus cereus</i>	ต้านความเป็นพิษของแคดเมียม	41, 43
<i>L. brevis</i> 23,017	รักษาพิษจากสารปรอท	44
<i>L. plantarum</i> CCFM8610 และ CCFM8661	ขับโลหะหนักออกทางอุจจาระ	39, 41
<i>L. rhamnosus</i> GR-1	ลดปริมาณความเข้มข้นของโลหะหนักในหญิงมีครรภ์และเด็ก	45
<i>F. prausnitzii</i>	กำจัดพิษและป้องกันความเป็นพิษจากสารหนู	47, 48
<i>A. muciniphila</i>	- ช่วยให้หน้าที่ในระบบการป้องกันทางเดินอาหาร (gut barrier function) แข็งแรงและเพิ่มการผลิตสาร mucins ในลำไส้ใหญ่ส่วน colon - ใช้กำจัดพิษสารแคดเมียม	35, 49-51
<i>F. prausnitzii</i> และ <i>O. ruminantium</i>	- ลดการดูดซึมและการสะสมของสารตะกั่ว - เพิ่มการแสดงออกของโปรตีนไทต์จังก์ชัน (tight junction) ในลำไส้	52

บทบาทของโปรไบโอติกส์ใน Functional Food (อาหารฟังก์ชัน) และการกำจัดพิษโลหะหนัก: ฤทธิ์จับโลหะ (Metal Chelators)

กลไกการกำจัดพิษโลหะหนักของโปรไบโอติกส์ เกิดจากการที่ประจุโลหะ (metal ion) จับกับผนังเซลล์ของแบคทีเรีย⁵³

โดยผ่านทางเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปสะสมภายในแบคทีเรียซึ่งเป็นการสะสมทางชีวภาพ (bioaccumulation)⁵³ ยิ่งไปกว่านั้น โปรไบโอติกส์ยังสามารถเปลี่ยนรูปแบบโลหะที่มีความเป็นพิษมากให้กลายเป็นรูปแบบโลหะที่มีความเป็นพิษน้อย ตัวอย่างเช่น แบคทีเรียแลคโตแบซิลลัสสามารถเปลี่ยนปรอทในรูปแบบ methylated mercury ไปเป็นปรอทรูปแบบสารประกอบอินทรีย์ (inorganic mercury, Hg²⁺) แล้วจึงเปลี่ยนเป็น HgO (Mercuric oxide) ซึ่งถูกดูดซึมได้ไม่ดีในระบบทางเดินอาหาร⁵⁴ การจับโลหะของโปรไบโอติกส์นั้นอาศัยกลุ่มโปรตีนคาร์บอกซิล (carboxyl group), กลุ่มไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ของเปปทิโดไกลแคน (peptidoglycan)^{53,55} ยิ่งไปกว่านั้นกรดอินทรีย์บางชนิดและสารเมแทบอลิต์จากกระบวนการสร้างและสลายของจุลินทรีย์ในลำไส้บางชนิด จะเพิ่มกระบวนการดูดซับทางชีวภาพ (biosorption) ของโลหะหนักได้ การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าแลคโตแบซิลลัสชนิดสายพันธุ์ดื้อ (resistant strain) เมื่อได้รับสารโครเมียมจะมีความทนทานต่อความเป็นพิษของโลหะหนักเพิ่มมากขึ้น⁵⁶ ปฏิกริยาตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อโลหะหนักจะเปลี่ยนโลหะหนักให้อยู่ในรูปแบบที่มีความเป็นพิษน้อยลง⁵⁷ Monachese และคณะพบว่าแลคโตแบซิลลัสบางสายพันธุ์สามารถแก้ไขและลดความเป็นพิษของสารปรอทได้⁵⁴ การศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้หลายรายงานชี้ให้เห็นว่า สปีชีส์ *L. rhamnosus* และยีสต์ *Saccharomyces boulardii* มีความสามารถในการกำจัดพิษโลหะ เช่น ปรอท ตะกั่ว แคดเมียม และสารหนู^{45,46,58} เมื่อไม่นานมานี้ยังพบอีกว่าอาหารฟังก์ชันซึ่งรวมถึงโปรไบโอติกส์ช่วยให้ผู้คนในประเทศกำลังพัฒนาสามารถรับมือกับผลกระทบที่เกิดขึ้นจากการได้รับพิษจากโลหะหนัก เช่น ในประเทศแทนซาเนีย โดยมีการรายงานว่า การได้รับโยเกิร์ตที่เสริม *L. rhamnosus* ในหญิงตั้งครรภ์หรือเด็กสามารถป้องกันความเป็นพิษของโลหะหนักจากปรอท และสารหนู ได้อย่างมีนัยสำคัญ⁴⁵

อะลูมิเนียมเป็นโลหะหนักที่มีพิษต่อระบบประสาท⁵⁹ ทำให้เกิดการสะสมของสาร amyloid beta (A β) peptide ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระออกซิเจน (Reactive oxygen species หรือ ROS)^{60,61} ในขณะเดียวกัน การรับประทานโปรไบโอติกส์ เช่น บีฟิโดแบคทีเรียและแลคโตแบซิลลัส จะเพิ่มการทำงานของเซลล์ประสาทและช่วยพัฒนาการเรียนรู้ของสมองให้ดีขึ้น โดยผ่านทาง การติดต่อระหว่างแกนลำไส้และสมอง (gut-brain axis)⁶² *L. plantarum* สามารถลดภาวะเครียดจากออกซิเดชัน (oxidative stress) ในสมองส่วน cerebral cortex ของหนู⁶³ การศึกษาก่อนหน้านี้ยังพิสูจน์ให้เห็นอีกว่าการได้รับสารโปรไบโอติกส์สามารถช่วยผู้ป่วยและคนปกติให้มีสุขภาพแข็งแรงทั้งในด้านสรีรวิทยาและด้านพฤติกรรม⁶⁴

Raghuvanshi และคณะได้รายงานประโยชน์ที่ได้จากการรับประทาน *Escherichia coli* ที่มีการดัดแปลงทางพันธุกรรม ในหนูที่ตับและไตได้รับอันตรายจากสารแคดเมียมและปรอท⁶⁵ มีรายงานการศึกษาพบอีกว่า พืชสายพันธุ์ African locust ที่ผ่านการหมักมีความสามารถในการจับกับประจุโลหะ (metal ion) ของโลหะหนัก⁶⁶ นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าถั่วเหลืองหมักและถั่วหมัก locust bean สามารถควบคุมการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบหัวใจและหลอดเลือด⁶⁷

การเสริมโปรไบโอติกส์ และการควบคุมการแสดงออกของยีนส์ในการส่งเสริมสุขภาพ

ในการทดลองเปรียบเทียบหนูกลุ่มที่มีไมโครไบโอมในลำไส้เหมือนหนูปกติกับหนูกลุ่มที่มีไมโครไบโอมที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากยาปฏิชีวนะซึ่งก่อนหน้านั้นทั้ง 2 กลุ่มได้รับสารโซเดียมอาร์เซนิต (sodium arsenite) พบว่าหนูที่มีไมโครไบโอมเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากยาปฏิชีวนะ มีการขับสารหนูออกทางปัสสาวะในระดับที่สูง ในทางกลับกันระดับของสารหนูที่ถูกขับออกในอุจจาระของหนูที่มีไมโครไบโอมเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากยาปฏิชีวนะกลับมีระดับสารหนูต่ำกว่าหนูกลุ่มที่มีไมโครไบโอมในลำไส้แบบหนูปกติ นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่ายีนส์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการคาร์บอนเมแทบอลิซึมมีการทำงานลดลง (down-regulation) อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งท้ายที่สุดอาจสรุปได้ว่าการปรับแต่งไมโครไบโอมด้วยยาปฏิชีวนะสามารถเพิ่มความเป็นพิษของสารหนู⁶⁸ ยิ่งไปกว่านั้นการเสริมกาแลคโต-โอลิโกแซคคาไรด์ (galactooligosaccharide) สามารถเพิ่มการขับออกของตะกั่วทางอุจจาระ ส่งผลให้ความเข้มข้นของโลหะตะกั่วในพลาสมาและในเนื้อเยื่อลดลงอย่างเห็นได้ชัดในหนูกลุ่มที่มีไมโครไบโอมแบบหนูปกติ ผลลัพธ์นี้จะไม่พบเมื่อไมโครไบโอมในลำไส้ของหนูถูกแปรเปลี่ยนด้วยยาปฏิชีวนะ⁶⁹ ในทางกลับกัน *L. plantarum* CCFM8661 อาจช่วยป้องกันการดูดซึมสารตะกั่วในหนูและเพิ่มการสังเคราะห์กรดน้ำดี เพิ่มการไหลเวียนของน้ำดีและการขับออกของกลูตาไธโอน ส่งผลให้การขับออกของกรดน้ำดีและสารตะกั่วทางอุจจาระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการให้ยาปฏิชีวนะในหนูเหล่านี้จะทำให้ประโยชน์ที่ได้รับจากการให้ *L. plantarum* CCFM8661 ลดลง⁷⁰

นอกจากนี้ มีการแสดงให้เห็นว่าการได้รับสารตะกั่วจะไปลดการแสดงออกของ pro-inflammatory cytokine (TNF- α , IL-1 β) แต่ในทางกลับกันพบการแสดงออกของยีนส์ฮีตช็อกโปรตีน (heat shock protein) HSP70 และ HSP90 เพิ่มขึ้นและมีการเพิ่มขึ้นของภาวะเครียดจากออกซิเดชัน (oxidative stress) อย่างไรก็ตาม การเสริมด้วยแบคทีเรีย

L. reuteri P16 จะช่วยควบคุมและปรับเปลี่ยนการแสดงออกของยีนส์ดังกล่าว³²

โปรไบโอติกส์ถูกพิจารณาว่าเป็นตัวควบคุมและปรับระบบภูมิคุ้มกันซึ่งสำคัญที่สุด เนื่องจากมันสามารถลดการอักเสบโดยทำหน้าที่เหมือนสารต้านอักเสบที่มีฤทธิ์เลียนแบบธรรมชาติ นอกจากนี้ โปรไบโอติกส์ยังมีผลการตอบสนองที่ชัดเจนต่อระบบภูมิคุ้มกันชนิดที่เป็นสารน้ำ (humoral immunity) และภูมิคุ้มกันแบบอาศัยเซลล์ควบคุม (cell-regulated immunity) เชื่อว่าโปรไบโอติกส์หลังสารที่เป็นปัจจัยเกี่ยวข้องกับการควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน จากการรายงานก่อนหน้านี้พบว่าสารที่หลังจากสายพันธุ์ *L. reuteri* สามารถยับยั้งการแสดงออกจากยีนส์ NF-Kb ซึ่งจะส่งผลในการลดการเจริญเติบโตของเซลล์ และส่งผลต่อ protein kinase ซึ่งถูกกระตุ้นโดยไนโตรเจน และนำไปสู่กระบวนการตายของเซลล์แบบ apoptosis⁷¹

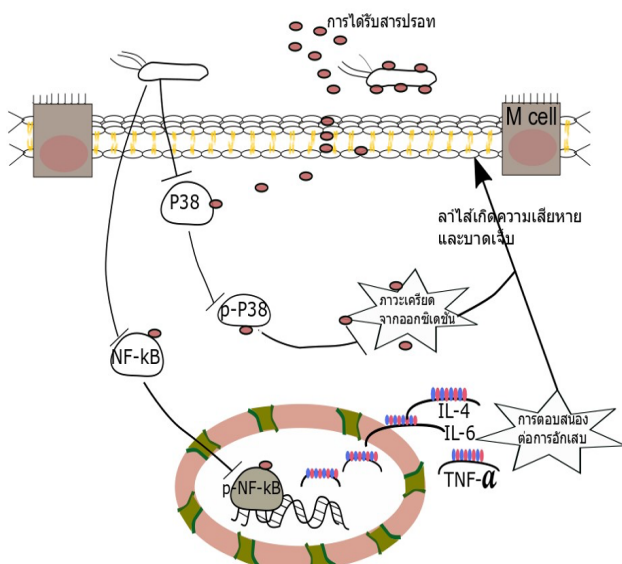
โปรไบโอติกส์สายพันธุ์ *L. plantarum* นับได้ว่าเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ตรงรากลบริเวณลำไส้เล็กส่วนเจริญนมและไอลิเยม⁷² นอกเหนือจากฤทธิ์ด้านภาวะเครียดจากออกซิเดชันซึ่งเกิดจากพิษของแคดเมียมแล้ว มันยังทำให้เกิดการตอบสนองของ T-helper cell, เพิ่ม STAT1 และ NF-KB p65 transcription ได้ทั้งในเซลล์เยื่อ (epithelial cells) รวมทั้งเซลล์แมโครฟาจ^{73,74} นอกจากนี้ *L. plantarum* ยังส่งเสริมระบบการปกป้องทางเดินอาหารโดยควบคุมวิธีการทำงานส่งสัญญาณ (signaling pathway) ของ toll-like receptor 2 (TLR2)^{75,76}

ดังนั้นการให้โปรไบโอติกส์สามารถควบคุมและปรับเปลี่ยนการแสดงออกของยีนส์ชนิดต่าง ๆ ที่แสดงออกมากเกินไป อันเนื่องมาจากพิษของแคดเมียมในหนู โดยควบคุม brain-derived neurotrophic factor, steroidogenic acute regulatory protein และ 17-hydroxysteroid dehydrogenase⁴⁶

นมหมัก (นมเปรี้ยว โยเกิร์ต) เป็นตัวอย่างที่ดีที่สุดสำหรับบทบาทของโปรไบโอติกส์ในการช่วยควบคุมยีนส์ (gene modulation) ในระหว่างกระบวนการหมักนม พบว่าจุลินทรีย์ *Lactobacillus helveticus* (*L. helveticus*) ผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มการสร้าง calcineurin ในระบบทางเดินอาหาร⁷⁷

โดยทั่วไป โปรไบโอติกส์สามารถใช้เป็นสารชีวภาพเพื่อการรักษา (biotherapy) เช่น สามารถกำจัด aflatoxin B จากสารละลายในน้ำ รวมทั้งการกำจัดมลภาวะเป็นพิษที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ นอกเหนือไปจากหน้าที่และความสามารถในการจับกับโลหะหนักดังที่กล่าวมา โปรไบโอติกส์ยังมีบทบาทสำคัญในการคงสภาพจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ (intestinal microflora) และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในผู้ที่มีนออาศัยอยู่ (host)⁴⁶

Jintai และคณะได้แสดงผลการศึกษาพบว่า *L. brevis* 23017 มีความสามารถในการจับกับสารปรอทในหนู⁷⁸ นอกจากนี้พวกเขายังได้รายงานอีกว่าสายพันธุ์แลคโตแบซิลัสที่ถูกใช้ในงานวิจัยก่อนหน้ามีความสามารถในการต้านภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน และช่วยทำให้การตอบสนองต่อการอักเสบที่เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นถึงบทบาทและกลไกของแบคทีเรียแลคโตแบซิลัสในฐานะควบคุมและต่อต้านภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน รวมทั้งฤทธิ์ด้านการอักเสบ งานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นถึงอีกหนึ่งความเป็นไปได้ของ *L. brevis* 23017 ในการช่วยควบคุมวิถีการส่งสัญญาณ (signaling pathway) ของ P38 และ NF-kB ในบริเวณต่าง ๆ ของลำไส้ เช่น colon และ duodenum⁷⁹ สำหรับกลไกการต้านภาวะเครียดจากออกซิเดชันและฤทธิ์ด้านการอักเสบได้อธิบายและแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ผลของการให้แลคโตแบซิลัส เบรวิส 23017 (*Lactobacillus brevis* 23017) ในการควบคุมภาวะเครียดจากออกซิเดชันและการอักเสบที่เกิดจากการได้รับสารปรอทในหนู mice⁸³

สายพันธุ์ *Pediococcus acidilactici* BT36 พบได้บริเวณที่ราบสูงทิเบต แบคทีเรียสายพันธุ์นี้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ Pengya Feng และคณะ⁸⁰ ได้ให้สายพันธุ์ดังกล่าวในหนูเป็นเวลา 20 วัน เพื่อให้เห็นว่าจะมีปริมาณแบคทีเรียเพียงพอที่จะทำการตั้งรกรากในลำไส้ ผลปรากฏว่าระดับการสะสมของสารโคโรเมตลดลงอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้ยังสามารถลดภาวะเครียดจากออกซิเดชันจากการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา พบเซลล์เนื้อเยื่อตับมีความเสียหายและถูกทำลายลดลง และจากการศึกษา 16S rRNA ด้วยวิธี metatranscriptome sequencing ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้

เทคโนโลยี microarray เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางชีวสารสนเทศอย่างละเอียด เพื่อจะให้ข้อมูลเกี่ยวกับการแสดงออกทางพันธุกรรม จากการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ *Pediococcus acidilactici* สามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงของไมโครไบโอมในลำไส้ที่เกิดจาก Cr (VI) และช่วยให้เมแทบอลิซึมดีขึ้น ผู้วิจัยพบอีกว่าสายพันธุ์ BT36 ช่วยควบคุมการแสดงออกของยีนส์ 788 ทำให้สายพันธุ์ BT36 สามารถควบคุมไมโครไบโอมในลำไส้และลดภาวะเครียดจากออกซิเดชันซึ่งเกิดจากโครเมียมได้⁸¹

นอกจากนี้เคยมีการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า *L. plantarum* CCFM639 สามารถเพิ่มการดูดซึมในลำไส้ ช่วยลดภาวะเครียดจากออกซิเดชัน และช่วยควบคุมระบบการตอบสนองต่อการอักเสบทั้งในหลอดทดลองและในสิ่งมีชีวิต ข้อมูลจากบันทึกผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า *L. plantarum* CCFM639 สามารถใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อป้องกันความเสียหายซึ่งเกิดจากสารอนุมูลอิสระทำลายลำไส้⁸²⁻⁸⁵

บทสรุป

ผลการศึกษาในงานวิจัยจำนวนมากพบว่าโปรไบโอติกส์ช่วยส่งเสริมสุขภาพของมนุษย์ พืช และสัตว์ สายพันธุ์โปรไบโอติกส์ที่แตกต่างกันแสดงคุณสมบัติในการต้านการอักเสบและต้านอาการแพ้ที่ไม่เหมือนกัน นอกจากนี้ โปรไบโอติกส์ยังกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในโรคต่าง ๆ รวมทั้งช่วยกำจัดสารพิษและโลหะหนักโดยอาศัยกระบวนการทางชีวภาพเพื่อขับสารเหล่านี้ออกจากร่างกาย จากการรวบรวมผลงานวิจัยและทบทวนวรรณกรรมในครั้งนีชี้ให้เห็นว่าการประยุกต์ใช้โปรไบโอติกส์อาจเป็นแนวทางที่ดีในการลดผลเสียที่เกิดขึ้นจากโลหะหนัก และอาจเป็นตัวเลือกที่ดีสำหรับการซ่อมเสริมและฟื้นฟูทางชีวภาพ (bioremediation)

เอกสารอ้างอิง

1. Munoz-Olivas R, Camara C. Speciation related to human health. In: Ebdon L, Pitts L, Cornelis R, Crews H, Donard OFX, Quevauviller P, editors. Trace element speciation for environment, food and health. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2001. p. 331-53.
2. Kheradmand K, Kamali K, Fathipour Y, Barzegar M, Goltapeh EM. Effect of pigmy mite *Pediculaster fletchmanni* (Acari: Siteroptidae) on mineral elements of button mushroom *Agaricus bisporus*. Pak J Biol Sci. 2006;9:2177-80.

3. Halttunen T, Finell M, Salminen S. Arsenic removal by native and chemically modified lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol.* 2007;120:173-8.
 4. Zoghi A, Khosravi-Darani K, Sohrabvandi S. Surface binding of toxins and heavy metals by probiotics. *Mini Rev Med Chemis.* 2014;14:84-98.
 5. Ahemad M, Kibret M. Recent trends in microbial biosorption of heavy metals: a review. *Biochem Mol Biol.* 2013;1:19-26.
 6. Ali H, Khan E, Sajad MA. Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. *Chemosphere.* 2013;91:869-81.
 7. Rajkumar M, Ae N, Prasad MNV, Freitas H. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends Biotechnol.* 2010;28:142-9.
 8. Huang L, Xie J, Lv B, Shi X, Li G, Liang F, Lian J. Optimization of nutrient component for diesel oil degradation by *Acinetobacter beijerinckii* ZRS. *Mar Pollut Bull.* 2013;76(1-2):325-32.
 9. Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science.* 1965;147:747-8.
 10. Parker RB. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim Nutr Health.* 1974;29:4-8.
 11. Marteau P, Messing B, Arrigoni E, Briet F, Flourie B, Morin MC, Rambaud JC. Do patients with short-bowel syndrome need a lactose-free diet? *J.C. Nutrition.* 1997;13:13-6.
 12. Salminen S, Bouley MC, Boutron-Ruault MC, Cummings J, Franck A, Gibson G, Isolauri E, Moreau MC RM, Rowland I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Bri J Nutr.* 1998;1:147-71.
 13. Diplock AT, Aggett P, Ashwell M, Bornet F, Fern E, Roberfroid M. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. *Br J Nutr.* 1999;81 Suppl 1:S1-27.
 14. Ghosh D, Chattopadhyay P. Preparation of idli batter, its properties and nutritional improvement during fermentation. *J Food Sci Technol.* 2010;48:610-5.
 15. Vanaja G, Gotcheva V, Angelov A, Agrawal R. Formation of volatiles and fatty acids of therapeutic importance in the probiotic *Lactobacillus plantarum* LPcfr adapted to resist GIT conditions. *J Food Sci Technol.* 2011;48:110-3.
 16. FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. FAO/WHO; 2002.
 17. Huys G, Botteldoorn N, Delvigne F, De Vuyst L, Heyndrickx M, Pot B, et al. Microbial characterization of probiotics-advisory report of the Working Group "8651 Probiotics" of the Belgian Superior Health Council (SHC). *Mol Nutr Food Res.* 2013;57:1479-504.
 18. Fijian S. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *Int J Environ Res Public Health.* 2014;11:4745-67.
 19. Maldonado Galdeano C, Cazorla SI, Lemme Dumit JM, Vélez E, Perdigón G. Beneficial effects of probiotic consumption on the immune system. *Ann Nutr Metab.* 2019;74:115-24.
 20. Hebert EM, Saavedra L, Ferranti P. Bioactive peptides derived from casein and whey proteins. In: Mozzi F, Raya RR, Vignola GM, editors. *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications.* Ames, Iowa, USA: Wiley-Blackwell; 2010. p. 233-49.
 21. Walther B, Sieber R. Bioactive proteins and peptides in foods. *Int J Vitam Nutr Res.* 2011;81:181-92.
 22. Martinez-Villaluenga C, Penas E, Frias J. Bioactive peptides in fermented foods: production and evidence for health effects fermented foods in health and disease prevention. Boston: Academic Press; 2017. p. 23-47.
 23. Chrestensen CA, Starke DW, Mieyal JJ. Acute cadmium exposure inactivates thioltransferase (Glutaredoxin), inhibits intracellular reduction of protein-glutathionyl-mixed disulfides, and initiates apoptosis. *J Biol Chem.* 2000;275:26556-65.
 24. Poprac P, Jomova K, Simunkova M, Kollar V, Rhodes CJ, Valko M. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends Pharmacol Sci.* 2017;38:592-607.
-

25. Lloyd RV, Hanna PM, Mason RP. The origin of the hydroxyl radical oxygen in the Fenton reaction. *Free Radic Biol Med.* 1997;22: 885-8.
26. Hanna PM, Kadiiska MB, Mason RP. Oxygen-derived free- radical and active oxygen complex-formation from cobalt (II) chelates in vitro. *Chern Res Toxicol.* 1992;5:109-15.
27. Crans DC, Smee JJ, Gaidamauskas E, Yang LQ. The chemistry and biochemistry of vanadium and the biological activities exerted by vanadium compounds. *Chem Rev.* 2004;104: 849-902.
28. Rin K, Kawaguchi K, Yamanaka K, Tezuka M, Oku N, Okada S. DNA-strand breaks induced by dimethylarsinic acid, a metabolite of inorganic arsenics, are strongly enhanced by superoxide anion radicals. *Biol Phann Bull.*1995;18:45-8.
29. Hartwig A, Schwerdtle T. Interactions by carcinogenic metal compounds with DNA repair processes: toxicological implications. *Toxicol Lett.* 2002;127:47-54.
30. Garcia-Esquinas E, Pollan M, Umans JG, Francesconi KA, Goessler W, Guallar E. Arsenic exposure and cancer mortality in a US-based prospective cohort: the strong heart study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2013;22:1944-53.
31. Meng Y, Tang C, Yu J, Meng S, Zhang W. Exposure to lead increases the risk of meningioma and brain cancer: a meta-analysis. *J Trace Elem Med Biol.* 2020;60:126474.
32. Milatovic D, Gupta RC, Yin Z, Zaja-Milatovic S, Aschner M. Manganese. In: Gupta RC, editor. *Reproductive and developmental toxicology.* Academic Press; 2017. p. 567-81.
33. Larsen N, Vogensen FK, Gobel RJ, Michaelsen KF, Forssten SD, Lahtinen SJ, et al. Effect of *Lactobacillus salivarius* Ls-33 on fecal microbiota in obese adolescents. *Clin Nutr.* 2013;32:935-40.
34. Veiga P, Pons N, Agrawal A, Oozeer R, Guyonnet D, Brazeilles R, et al. Changes of the human gut microbiome induced by a fermented milk product. *Sci Rep.* 2014;4:6328.
35. Giri SS, Yun S, Jun JW, Kim HJ, Kim SG, Kang JW, et al. Therapeutic effect of intestinal autochthonous *Lactobacillus reuteri* PI6 against waterborne lead toxicity in *Cyprinus carpio*. *Front Immunol.* 2018;9:1824.
36. Tian F, Zhai Q, Zhao J, Liu X, Wang G, Zhang H, et al. *Lactobacillus plantarum* CCFM8661 alleviates lead toxicity in mice. *Biol Trace Elem Res.* 2012;150:264-71.
37. Coryell M, Mcalpine M, Pinkham NV, Mcdermott TR, Walk ST. The gut microbiome is required for full protection against acute arsenic toxicity in mouse models. *Nat Commun.* 2018;9:5424.
38. Feug S, Liu Y, Huang Y, Zhao J, Zhang H, Zhai Q, Chen W. Influence of oral administration of *Akkermansia muciniphila* on the tissue distribution and gut microbiota composition of acute and chronic cadmium exposure mice. *FEMS Microbiol Lett.* 2019 Jul 1;366(13):fnz160. doi: 10.1093/femsle/fnz160.
39. Gao B, Chi L, Mahbub R, Bian X, Tu P, Ru H, Lu K. Multiomics reveals that lead exposure disturbs gut microbiome development, key metabolites, and metabolic pathways. *Chem Res Toxicol.* 2017;30:996-1005.
40. Claus SP, Ellero SL, Berger B, Krause L, Bruttin A, Molina J, et al. Colonization induced host-gut microbial metabolic interaction. *mBio.* 2011;2:e00271-10.
41. Breton J, Daniel C, Dewulf J, Pothion S, Froux N, Sauty M, et al. Gut microbiota limits heavy metals burden caused by chronic oral exposure. *Toxicol Lett.* 2013;222: 132-8.
42. Zhai Q, Cen S, Jiang J, Zhao J, Zhang H, Chen W. Disturbance of trace element and gut microbiota profiles as indicators of autism spectrum disorder; a pilot study of Chinese children. *Environ Res.* 2019;171:501-9.
43. Yu H, Zhang B, Liu XX, Yu S, Cheng JS, et al. Arsenic metabolism and toxicity influenced by ferric iron in simulated gastrointestinal tract and the roles of gut microbiota. *Environ Sci Technol.* 2016;50:7189-97.

44. Zhai Q, Tian F, Zhao J, Zhang H, Narbad A, Chen W. Oral administration of probiotics inhibits absorption of the heavy metal cadmium by protecting the intestinal barrier. *Appl Environ Microbiol.* 2016;82:4429-40.
 45. Wang J, Hu W, Yang H, Chen F, Shu Y, Zhang G, et al. Arsenic concentrations, diversity and cooccurrence patterns of bacterial and fungal communities in the feces of mice under sub-chronic arsenic exposure through food. *Environ Int.* 2020;138:105600.
 46. Wang N, Jiang M, Zhang P, Shu H, Li Y, Guo Z, Li Y. Amelioration of Cd induced bioaccumulation, oxidative stress and intestinal microbiota by *Bacillus cereus* in *Carassius auratus gibelio*, *Chemosphere.* 2020;245:125613.
 47. Wu GF, Xiao XP, Feng PY, Xie FQ, Yu ZS, Yuan WZ, et al. Gut remediation: a potential approach to reducing chromium accumulation using *Lactobacillus plantarum* TWI-1. *Sci Rep.* 2017 Nov 8;7(1):15000.
 48. Bisanz JE, Enos MK, Mwanga JR, Chagalucha J, Burton JP, Gloor GB, Reid G. Randomized open-label pilot study of the influence of probiotics and the gut microbiome on toxic metal levels in Tanzanian pregnant women and school children. *mBio.* 2014 Oct 7;5(5):e01580-14.
 49. Kadry MO, Abdel Megeed RM. Probiotics as a complementary therapy in the model of cadmium chloride toxicity: crosstalk of β -catenin, BDNF, and StAR signaling pathways. *Biol Trace Elem Res.* 2018;185:404-13.
 50. Qin J, Lehr CR, Yuan C, Le XC, McDermott TR, Rosen BP. Biotransformation of arsenic by a Yellowstone thermoacidophilic eukaryotic alga. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:5213-7.
 51. Miquel S, Leclerc M, Martin R, Chain F, Lenoir M, Raguideau S, et al. Identification of metabolic signatures linked to anti-inflammatory effects of *Faecalibacterium prausnitzii*. *mBio.* 2015 Apr 21;6(2):e00300-15.
 52. Lukovac S, Belzer C, Pellis L, Keijsers BJ, de Vos WM, Montijn RC, Roeselers G. Differential modulation by *Akkermansia muciniphila* and *Faecalibacterium prausnitzii* of host peripheral lipid metabolism and histone acetylation in mouse gut organoids. *mBio.* 2014 Aug 12;5(4):e01438-14.
 53. Zimta AA, Schitcu V, Gurzau E, Stavaru C, Manda G, Szedlacsek S, et al. Biological and molecular modifications induced by cadmium and arsenic during breast and prostate cancer development. *Environ Res.* 2019;178:108700.
 54. Zheng R, Wang P, Cao B, Wu M, Li X, Wang H, et al. Intestinal response characteristic and potential microbial dysbiosis in digestive tract of *Bufo gargarizans* after exposure to cadmium and lead, alone or combined. *Chemosphere.* 2021;271:129511.
 55. Zhai Q, Qu D, Feng S, Yu Y, Yu L, Tian F, et al. Oral supplementation of lead intolerant intestinal microbes protects against lead (Pb) toxicity in mice. *Front Microbiol.* 2019;10:3161.
 56. Yi YJ, Lim JM, Gu S, Lee WK, Oh E, Lee SM, et al. Potential use of lactic acid bacteria *Leuconostoc mesenteroides* as a probiotic for the removal of Pb(II) toxicity. *J Microbiol.* 2017;55:296-303.
 57. Monchese M, Burton JP, Reid G. Bioremediation and tolerance of humans to heavy metals through microbial processes: a potential role for probiotics? *Appl Environ Microbiol.* 2012;78:6397-404.
 58. Gerbino E, Mobili P, Tymczynszyn E, Fausto R, Gómez-Zavaglia A. FTIR spectroscopy structural analysis of the interaction between *Lactobacillus kefir* S-layers and metal ions. *JMol Struct.* 2011;987:186-92.
 59. Upreti RK, Sinha V, Mishra R, Kannan A. In vitro development of resistance to arsenite and chromium-VI in lactobacilli strains as perspective attenuation of gastrointestinal disorder. *J Environ Biol.* 2011 May;32(3):325-32.
 60. Shrivastava R, Upreti RK, Chaturvedi UC. Various cells of the immune system and intestine differ in their capacity to reduce hexavalent chromium. *FEMS Immunology & Medical Microbiology.* 2003;38:65-70.
-

61. Ibrahim F, Ruvio S, Granlund L, Salminen S, Viitanen M, Ouwehand AC. Probiotics and immunosenescence: cheese as a carrier. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2010;59:53-9.
62. Prakash D, Gopinath K, Sudhandiran G. Fisetin enhances behavioral performances and attenuates reactive gliosis and inflammation during aluminum chloride-induced neurotoxicity. *Neuro Molecular Med.* 2013;15:192-208.
63. Zatta P, Kiss T, Suwalsky M, Berthon G. Aluminum (III) as a promoter of cellular oxidation. *Coord Chem Rev.* 2002;228:271-84.
64. Li M, Cui J, Gao Y, Zhang W, Sun L, Liu X, et al. Pathological changes and effect on the learning and memory ability in rats exposed to fluoride and aluminum. *Toxicol Res-Uk.* 2015;4:1366-73.
65. Ohland CL, Kish L, Bell H, Thiesen A, Hotte N, Pankiv E, Madsen KL. Effects of *Lactobacillus helveticus* on murine behavior are dependent on diet and genotype and correlate with alterations in the gut microbiome. *Psycho neuro endocrinology.* 2013;38:1738-47.
66. Tian F, Yu L, Zhai Q, Xiao Y, Shi Y, Jiang J, et al. The therapeutic protection of a living and dead *Lactobacillus* strain against aluminum-induced brain and liver injuries in C57BL/6 mice. *PLoS One.* 2017;12:e0175398.
67. Gareau MG. Microbiota-gut-brain axis and cognitive function. In: Lyte M, Cryan JF, editors. *Microbial endocrinology: the microbiota gut-brain axis in health and disease.* Springer; 2014. p. 357-71.
68. Raghuvanshi R, Chaudhari A, Kumar GN. Amelioration of cadmium-and mercury-induced liver and kidney damage in rats by genetically engineered probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 producing pyrroloquinoline quinone with oral supplementation of citric acid. *Nutrition.* 2016;32:1285-94.
69. Bosscher D, Van Caillie-Bertrand M, Deelstra H. Do thickening properties of locust bean gum affect the amount of calcium, iron and zinc available for absorption from infant formula? In vitro studies. *Int J Food Sci Nutr.* 2003;54:261-8.
70. Ademiluyi AO, Oboh G, Boligon AA, Athayde ML. Dietary supplementation with fermented legumes modulate hyperglycemia and acetylcholinesterase activities in Streptozotocin-induced diabetes. *Pathophysiology.* 2015;22:195-201.
71. Reyes-Becerril M, Angulo C, Sanchez V, Cuesta A, Cruz A. Methyl mercury, cadmium and arsenic(III)-induced toxicity, oxidative stress and apoptosis in Pacific red snapper leukocytes. *Aquat Toxicol.* 2019;213:105223.
72. Kim JJ, Kim YS, Kumar V. Heavy metal toxicity: an update of chelating therapeutic strategies. *J Trace Elem Med Bio.* 2019;54:226-31.
73. Ahuie Kouakou G, Gagnon H, Lacasse V, Wagner JR, Naylor S, Klarskov K. Dehydroascorbic acid S-thiolation of peptides and proteins: role of homocysteine and glutathione. *Free Radic Biol Med.* 2019;141:233-43.
74. Yousefi B, Eslami M, Ghasemian A, Kokhaei P, Salek Farrokhi A, Darabi N. Probiotics importance and their immunomodulatory properties. *J Cell Physiol.* 2019;234:8008-18.
75. Nogacka AM, Oddi S, Salazar N, Reinheimer JA, Gueimonde M, Vinderola G, et al. Intestinal immunomodulation and shifts on the gut microbiota of BALB/c mice promoted by two *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains isolated from human samples. *Biomed Res Int.* 2019;2019:2323540.
76. Smelt MJ, de Haan BJ, Bron PA, van Swam I, Meijerink M, Wells JM, et al. Probiotics can generate FoxP3 T-cell responses in the small intestine and simultaneously inducing CD4 and CD8 T cell activation in the large intestine. *PLoS One.* 2013;8:e68952.
77. Trapecar M, Goropevsek A, Gorenjak M, Gradisnik L, Slak RM. A co-culture model of the developing small intestine offers new insight in the early immune-modulation of enterocytes and macrophages by *Lactobacillus* spp. through STAT1 and NF-B p65 translocation. *PLoS One.* 2014;9:e86297.

78. Karczewski J, Troost FJ, Konings I, Dekker J, Kleerebezem M, Brummer R-JM, Wells JM. Regulation of human epithelial tight junction proteins by *Lactobacillus plantarum* in vivo and protective effects on the epithelial barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2010;298:G851-9.
 79. Zhai Q, Tian F, Zhao J, Zhang H, Narbad A, Chen W. Oral administration of probiotics inhibits absorption of the heavy metal cadmium by protecting the intestinal barrier. *Appl Environ Microbiol*. 2016;82:4429-40.
 80. Feng P, Ye Z, Han H, Ling Z, Zhou T, Zhao S, et al. Tibet plateau probiotic mitigates chromate toxicity in mice by alleviating oxidative stress in gut microbiota. *Commun Biol*. 2020 May 15;3(1):242. doi: 10.1038/s42003-020-0968-3.
 81. Isolauri E, Sherman PM, Walker WA. Intestinal microbiome: functional aspects in health and disease. Karger; 2017.
 82. Jintai C, Shanshan G, Yufei Z, Siqi M, Qiqi X, Wen C. et al. Animal source of lactic acid bacteria isolation and clone of the resistance gene against mercury. *Heilongjiang Anim Sci Veter Med*. 2017;3:138-41.
 83. Jiang X, Gu S, Liu D, Zhao L, Xia S, He X, Chen H, Ge J. *Lactobacillus brevis* 23017 relieves mercury toxicity in the colon by modulation of oxidative stress and inflammation through the interplay of MAPK and NF- κ B signaling cascades. *Front Microbiol*. 2018;9:2425.
 84. Feng P, Ye Z, Han H, Ling Z, Zhou T, Zhao S, et al. Tibet plateau probiotic mitigates chromate toxicity in mice by alleviating oxidative stress in gut microbiota. *Commun Biol*. 2020 May 15;3(1):242.
 85. Leilei Y, Qixiao Z, Fengwei T, Xiaoming L, Gang W, Jianxin Z, et al. Potential of *Lactobacillus plantarum* CCFM639 in protecting against aluminum toxicity mediated by intestinal barrier function and oxidative stress. *Nutrients*. 2016;8:783.
-