Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 11:38 +0330 on Sunday December 24th 2017

مقاله پژوهشی

بررسی تاثیر تجویز لاکتوباسیلوس رامنوسوس (LMG 18243) بر روند رشد سرطان پستان در موش‌های inbred BALB/c

باران قزل باش[۱]، فیروز قادری پاکدل[*۲]، زهیر محمد حسن[۳]، صمد زارع[٤]، امیر تکمه چی[٥]، رحیم حب نقی[٦]، سمیه نادری[۷]

تاریخ دریافت 90/01/24 تاریخ پذیرش 90/04/01

چکیده

پیش زمینه و هدف: پروبیوتیک‌ها دارای قدرت بهبود سیستم ایمنی بوده و در درمان سرطان استفاده می‌شوند. این باکتری‌ها ضمن تحریک و تقویت سیستم ایمنی دستگاه گوارشی، تحریک ایمنی سایر ارگان‌ها را نیز موجب می‌شوند. مطالعه حاضر اثرات لاکتوباسیلوس رامنوسوس (LMG 18243) بر روند رشد تومور و وضعیت موش‌های مبتلا به سرطان پستان را بررسی کرده است.

مواد و روش کار: ۱۰ سر موش ماده Balb/C (۴-۶ هفته، وزن ۱۸-۲۰ گرم) بعد از توموری شدن به طریق پیوند، به طور تصادفی در دو گروه مساوی قرار گرفتند. موش‌های گروه پروبیوتیک قبل از توموری شدن به مدت یک هفته باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس به میزان 3×10^8 CFU/day به صورت درون معدی و به فرم سوسپانسیون دریافت کرده و بعد از توموری شدن هم با وقفه‌های سه روزه بعد از دوره هفت روزه نقاهت، سوسپانسیون لاکتوباسیلوس رامنوسوس دریافت نمودند. گروه کنترل با همان شرایط PBS دریافت کردند.

یافته‌ها: براساس نتایج سرعت رشد تومور موش‌های دریافت کننده باکتری پروبیوتیک کم‌تر از گروه کنترل بوده که بیانگرافزایش کارآمدی سیستم ایمنی این موش‌ها در برابر تومور می‌باشد. نتایج هیستوپاتولوژی افزایش معنی‌دار نکروز داخل توموری در لایم‌های تهیه شده موش‌های گیرنده پروبیوتیک نسبت به موش‌های کنترل بوده است. پاسخ ازدیاد حساسیت تاخیری ۴۸ ساعته نیز در تحریک مجدد با آنتی ژن اختصاصی تومور بیشتر از گروه کنترل بوده که بیانگر تحریک سلول‌های Th1 خاطره‌ای می‌باشد.

بحث و نتیجه گیری: مصرف لاکتوباسیلوس رامنوسوس می‌تواند باعث تقویت پاسخ ایمنی علیه تومور شده و احتمالا این پروبیوتیک می‌تواند به عنوان یک عامل حمایت کننده در درمان سرطان مطرح شود.

کلید واژه‌ها: پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، BALB/c، سرطان پستان

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و دوم، شماره سوم، ص ۲۳۸-۲۳۰، مرداد وشهریور ۱۳۹۰

آدرس مکاتبه: ارومیه، جاده نازلو، پردیس نازلو، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، صندوق پستی ۱۱۳۸، تلفن تماس: ۰۹۱۴۴۴۳۲۴۳۲

Email: info@fgpakdel.com

مقدمه

سرطان پستان یکی از مهم‌ترین عوامل تهدید کننده زندگی زنان بوده و سالیانه تعداد زیادی از زنان مخصوصاً در سنین بالا به دلیل عدم تشخیص به موقع و نیز عدم وجود برنامه منظم پیشگیری و تکمیل درمان جان خود را از دست می‌دهند. بیش از ۲۱۰۰۰۰ هزار مورد جدید از نوع آسیب رسان سرطان پستان و ۴۰۰۰۰ مرگ به علت سرطان پستان در سال ۲۰۰۳ رخ داده و این در حالی است که حداکثر مرگ در اثر آن در سال ۱۹۹۵

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

[۲] استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

[۳] استاد گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

[٤] دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

[٥] استادیار میکرولوژی، مرکز تحقیقات علوم سلولی - مولکولی دانشگاه ارومیه

[٦] استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[۷] دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 11:38 +0330 on Sunday December 24th 2017

بوده و به میزان ۲۰۰۰ مورد در سال کاهش نشان داده است (۱). بیشترین شیوع سرطان پستان (۱ تا ۵ درصد) مربوط به سال‌های ۱۹۷۵ تا ۱۹۹۰ بوده و این میزان شیوع در بخش‌هایی از آسیا، آفریقا و نیز اروپا بوده است (۲). مهم‌ترین عوامل خطر بروز سرطان پستان شامل؛ طول مدت مواجه با هورمون‌های زنانه (مثل بلوغ زود رس و یائسگی دیر رس)، عوامل تولید مثلی (زایمان زیاد، سن زیاد در اولین حاملگی)، نوع تغذیه، وزن زیاد و چاقی، کاهش فعالیت فیزیکی، مواجه با تشعشعات یونیزه کننده، درمان‌های هورمونی و عوامل ژنتیکی هستند (۳). الگوی شیوع سرطان پستان جوامع متفاوت بوده و ضمن کم‌تر بودن آن در زنان آسیایی نسبت به زنان غربی، در جوامع صنعتی رو به افزایش است. در جوامع آسیایی بیشترین سن شیوع آن در زنان بین ۴۰ تا ۴۵ سال بوده ولی در زنان غربی در سن بالاتر رخ می‌دهد (۴). براساس نتایج حاصل از مطالعات مبتنی بر داده‌های مستخرج از ثبت سرطان در ایران، نشان داده شده است که در طی یک دوره پنج ساله شیوع آن بر اساس سن استاندارد شده، ۱۶/۲ در هر صدهزار نفر از جمعیت زنان در سال بوده است. این رقم در مقایسه با مقادیر کشورهای غربی پایین بوده و در بین استان‌های مطالعه شده استان اردبیل از مقادیر شیوع کم‌تری برخوردار بوده است (۵،۶). درمان‌های رایج سرطان پستان تابع عواملی مثل؛ نوع سرطان، مراحل پیشرفت بیماری، میزان حجم اندام درگیر، محل بروز و غیره می‌باشد. این روش‌ها متفاوت بوده و در برگیرنده انواع روش‌های جراحی، شیمی درمانی، ایمنوتراپی، و برخی درمان‌های اختصاصی می‌باشد (۷،۸). در سرطان پستان همانند سایر سرطان‌ها، کاهش پاسخ ایمنی از جمله پاسخ افزایش حساسیت تاخیری، عملکرد سیتولیتیک، کاهش تکثیر سلول‌های ایمنی و در نتیجه کاهش سایتوکاین‌ها رخ می‌دهد (۹). مهم‌ترین عامل در بدن علیه سرطان توان سیستم ایمنی علیه آن بوده و تقویت قدرت سیستم ایمنی در شناسایی و نیز از بین بردن سلول‌های سرطانی مهم‌ترین سد درمانی است. ایمنوتراپی فرآیندهایی را شامل می‌گردد که در آن توانایی سیستم ایمنی در مبارزه با سلول‌های سرطانی افزایش داده می‌شود. هم در مطالعات انسانی و هم در مدل‌های حیوانی نشان داده شده است که بهترین راه پیشگیری و نیز درمان سرطان، تقویت سیستم ایمنی است (۱۲-۱۰). استفاده مرسوم از مواد پروبیوتیکی در برخی جوامع منجر به کاهش میزان شیوع سرطان در این کشورها گردیده است (۱۳). امروزه مشخص شده است که پروبیوتیک‌ها قادر هستند سیستم ایمنی را به شدت تحریک کرده و آن‌را برای مبارزه با سرطان تقویت نمایند. پروبیوتیک‌ها دسته‌ای از میکروارگانیسم‌های زنده غیر بیماری‌زا هستند که در صورت مصرف به میزان مشخص، اثرات مفیدی در سیستم ایمنی بر جا می‌گذارند (۱۶-۱۴). در مطالعات مختلف روی مدل‌های حیوانی و نیز موارد انسانی به همراه مطالعات باکتری شناسی، این موضوع به اثبات رسیده است که باکتری‌های لاکتیک اسید[1] یا LAB دارای اثرات تقویتی روی سیستم ایمنی بوده و قادر هستند با کم‌ترین اثرات جانبی موجب کاهش میزان سرطان در موارد انسانی گردند (۱۷). در بین این باکتری‌ها، جنس لاکتوباسیلوس[2] بیشترین میکروارگانیسم‌هایی هستند که به عنوان پروبیوتیک در بدن انسان قادر به فعالیت هستند (۱۸،۱۹). این گروه از باکتری‌ها باعث بهبود و افزایش عملکرد سیستم ایمنی شده و پروبیوتیک‌ها از جمله لاکتوباسیلوس‌ها باعث افزایش مقاومت بدن در برابر عفونت‌ها و سرطان‌ها می‌باشند. مصرف این باکتری‌ها موجب افزایش عملکرد ماکروفاژها و ترشح مواد متعدد از جمله ایمنوگلوبولین‌ها می‌شود (۱۵). اگرچه باکتری جنس لاکتوباسیلوس بیشتر از همه مورد توجه بوده است ولی در سالیان اخیر مشخص شده است که سویه‌های مختلف گونه‌های آن قدرت پروبیوتیکی متفاوتی داشته و بکارگیری آن‌ها در برخی از بیماری‌ها نیازمند مطالعه و تحقیق می‌باشد. لاکتوباسیلوس رامنوسوس[3] یکی یکی از این گونه‌ها است که دارای سویه‌های مختلفی با ویژگی‌های سلولی متفاوتی است. از نظر وابستگی ژنی، این باکتری به گونه لاکتوباسیلوس کازیی[4] وابسته بوده و سویه‌های آن دارای قدرت تخمیر ناهمگونی هستند. به جز برخی سویه‌ها، اغلب آن‌ها بیماری‌زا نیستند. سویه های $ATCC7469^T$ (هم نام $DSM20021^T$ یا $LMG6400^T$) از مشهورترین آن‌ها هستند (۱۸). با توجه به توانایی دانشمندان درتغییر ژنی باکتری‌ها و نیز ایجاد سویه‌های جدید با توانایی تولید برخی مواد محرک سیستم ایمنی، به نظر می‌رسد تحقیقات در این خصوص می‌تواند بسیار وسیع و متنوع باشد. از آنجایی که برخی سویه‌های لاکتوباسیلوس در مطالعات گذشته به عنوان عوامل موثر در ممانعت از رشد تومورهای پیوندی در مدل‌های حیوانی شناخته شده‌اند، لذا هدف این مطالعه بررسی اثر سویه جدید لاکتوباسیلوس رامنوسوس با نام LMG18243 در روی سلول‌های سرطان پستان ایجاد شده در مدل موش Balb/C می‌باشد.

مواد و روش کارها

حیوانات آزمایشگاهی: مطابق تاکید مقالات متعدد و برای داشتن پاسخ در حیوانات تحت آزمایش، ۱۰ سر موش ماده Balb/C با سن تقریبی ۴ تا ۶ هفته از انستیتو پاستور تهران

[1] Lactic Acid Bacteria (LAB)
[2] Lactobacillus
[3] Lactobacillus rhamnosus
[4] Lactobacillus casei

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 11:38 +0330 on Sunday December 24th 2017

خریداری و در شرایط مناسب (دوره روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته، شروع روشنایی ساعت ۸ صبح، تغذیه حیوانات با پلت‌های استاندارد بوده، دمای محل نگهداری ۱°C ± ۲۳ و رطوبت ۵۲ درصد بوده است) به مدت یک هفته نگهداری شدند تا با شرایط خانه حیوان تطابق حاصل نمایند. تمام روش‌های آزمایشی روی حیوانات با توجه به معاهدات هلسینکی درخصوص رعایت حقوق حیوانات و نیز موازین اخلاقی در پژوهش‌های پزشکی انجام شده است. مراحل انجام آزمایش و نگهداری حیوانات تحت نظارت کمیته اخلاق در پژوهش‌های پزشکی دانشگاه تربیت مدرس صورت می‌گرفت.

روش کشت و تجویز باکتری: باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس (LMG 18243) از منابع استاندارد خریداری و در محیط MRS آگار (Merck, Germany) به صورت روزانه در دمای ۳۷ °C انکوبه و کشت داده می‌شد. دوز مناسب تجویز و روش تجویز باکتری‌ها بر اساس روش‌های استاندارد انجام می‌شد. به طور خلاصه ابتدا باکتری در محیط کشت MRS آگار به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C (pH=6.2) انکوبه شده و سپس کلنی‌های رشد کرده توسط ۱ میلی لیتر سرم با بافر فسفات استریل (PBS) جمع آوری شده و با استفاده از روش رقت سازی متوالی میزان 3×10^8 cfu[1] از باکتری تهیه و روزانه از این سوسپانسیون به روش داخل معدی و به کمک سرنگ گاواژ به هر موش خورانده می‌شد. در موش‌های گروه کنترل مقدار مساوی PBS به حیوانات تجویز می‌شد. گاواژ باکتری یک هفته قبل از تومورى شدن موش‌ها و بعد از پیوند نیز پس از وقفه هفت روزه دوره نقاهت، با فواصل سه روز به طور مداوم تا ۲۷ روز ادامه می‌یافت.

نحوه شمارش جهت تعیین دوز مناسب: برای تعیین دوز مناسب یک میکرولیتر از سوسپانسیون بدست آمده با ۹۹۹ میکرولیتر از PBS رقیق شده تا رقت 10^3 تهیه شود و مجدداً یک میکرولیتر از رقت 10^3 را با ۹۹۹ میکرولیتر از PBS رقیق کرده و این با رقت را به (10^6) رسانده و سپس از این محلول آخر ۱۰۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت MRS آگار کشت داده و انکوبه شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد کلنی‌های بدست آمده شمارش گردید. میزان شمارش شده معادل ۳۰ بود که برابر محاسبات انجام شده این رقت از کشت اولیه حاوی 3×10^8 cfu/ml بود.

نحوه القا تومور در حیوانات: در این تحقیق از پیوند بافت توموری برای القاء سرطان پستان استفاده شد. برای این منظور موشی که دچار تومور خودبخودی می‌شد و مدل مناسبی برای برداشت تومور بود مورد بازبینی قرار می‌گرفت. پس از تایید سرطانی شدن حیوان، قطعات توموری برداشته می‌شد. برای برداشتن قطعات تومور ابتدا حیوان به روش نخاعی شدن کشته شده و کل بافت تومور به صورت استریل از بدن موش جدا شده و داخل سرم فیزیولوژی استریل قرار می‌گرفت. تومور جدا شده معمولاً به قطعات پنج میلی‌متر مکعبی تقسیم می‌شد. حیوانات دریافت کننده تومور با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (Ketanest, Parke-Davies, Freiburg, Germany) و زایلازین (10, 3 mg/Kg) (Bayer, Leverkusen, Germany) بیهوش شده و پس از بیهوشی کامل قطعات آماده شده تومور تحت شرایط استریل در زیر پوست ناحیه فلانک و در سمت چپ حیوانات پیوند زده می‌شد. پوست ناحیه با کلیپس‌های مخصوص بخیه زده شده و حدود یک هفته پس از پیوند رشد تومورها با چشم مورد مشاهده قرار گرفته و در صورت رشد مناسب، حیوان در روند آزمایش وارد شده و در صورت عدم رشد تومور حیوان از روند تحقیق خارج می‌شد.

اندازه گیری سیر رشد تومور: یک هفته بعد از تایید تومور ، حجم تومور در دو جهت طول و عرض توسط یک کولیس ورنیه و هر ۴۸ ساعت اندازه گیری می‌شد. اندازه گیری تا آخرین روز تیمار ادامه یافت و با فرمول نصف طول × عرض به توان دو محاسبه گردید. بررسی تغییرات مربوط به حجم تومور بر اساس درصد افزایش حجم تومور نسبت به روز صفر آن محاسبه می‌شد.

بررسی ازدیاد حساسیت تاخیری یا DTH (Delayed-Type Hypersensitivity): بررسی ازدیاد حساسیت تاخیری برای تعیین بالانس فعالیت لنفوسیت‌های T کمکی (T-helper) بین Th1 و Th2 روش مرسومی است. ایمنی مربوط به Th1 ایمنی سلولی[2] بوده و در پاسخ ایمنی علیه بیماری‌های ویروسی و نیز حذف سلول‌های سرطانی نقش داشته ولی ایمنی مربوط به Th2 مسئول ایمنی هومورال[3] می‌باشد(۲۰). برای بدست آوردن میزان ازدیاد حساسیت تاخیری به کف پای چپ هر دو گروه دریافت کننده باکتری و کنترل میزان ۲۰ میکرولیتر از آنتی ژن اختصاصی تومور (تهیه شده از تومور اصلی) و به همان مقدار PBS به کف پای راست تزریق کرده و میزان التهاب ناحیه تزریق را ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت بعد از تزریق توسط کولیس ورنیه ثبت شد و با استفاده از فرمول ذیل نتایج مورد بررسی قرار می‌گرفت. لازم به ذکر است که این تست در سه روز آخر تیمار انجام می‌شد.

$$\frac{\text{قطر پای راست} - \text{قطر پای چپ}}{\text{قطر پای راست}} \times ۱۰۰$$

[1] Colony Forming Unit

[2] Cellular Immunity
[3] humoral Immunity

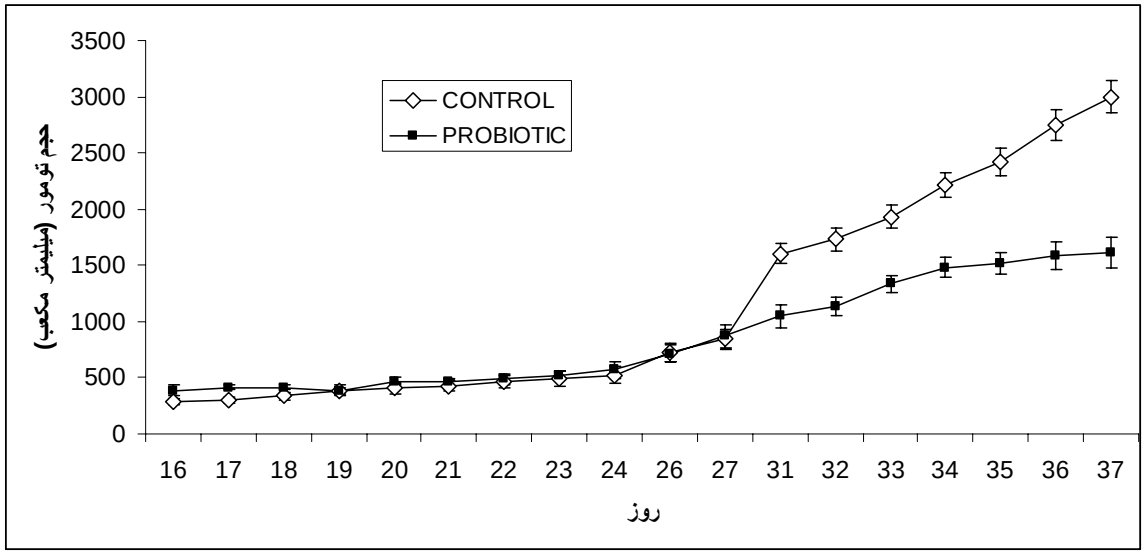
Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 11:38 +0330 on Sunday December 24th 2017

بررسی‌های پاتولوژیک: بدین منظور بعد از کشتن موش‌های هر گروه در پایان روز ۳۶ قطعات پنج میلی‌مترمربعی از بافت تومور تهیه و در بافر فسفات فرمالین ۱۰درصد جهت انجام مطالعات پاتولوژیکی حفظ گردید.

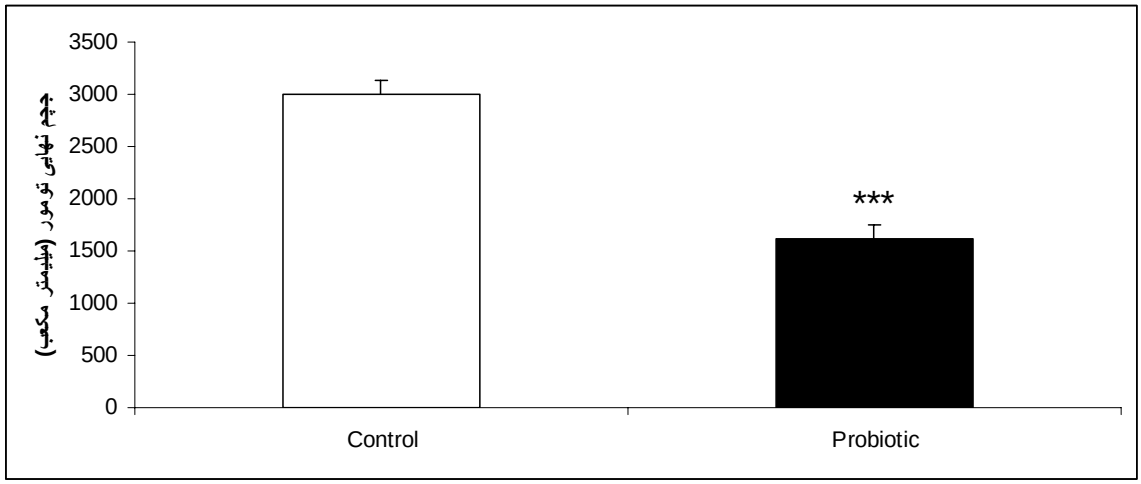
آنالیز آماری: برای آزمون آماری پارمترهای مورد نظر در بین گروه‌ها از آنالیز آماری ANOVA یک طر فه و تست توکی استفاده شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار آماری GB-Stat ver 5.0 استفاده شده و سطح معنی‌داری معادل ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ بر حسب مقایسه در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج سیر رشد و حجم نهایی تومور: حجم نهایی تومور در موش‌هایی که باکتری باسیلوس رامنوسوس دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل مقایسه گردیده و مشخص شد میزان حجم نهایی تومور در گروه دریافت کننده پروبیوتیک کم‌تر از گروه کنترل بوده است. در واقع نتایج نشان داد که سیر رشد تومور با دریافت باکتری در گروه دریافت کننده باکتری پروبیوتیک کم‌تر از گروه کنترل بوده است. در نمودارهای ۱ و۲ میزان حجم نهایی و نیز رشد تومور مقایسه شده است. حجم نهایی تومور در گروه کنترل (۱۴۰±۲۹۹۷/۹ میلی‌متر مکعب) در مقایسه با حجم نهایی آن در گروه پروبیوتیک (۱۳۲±۱۶۱۳/۳ میلی‌متر مکعب) با $p<0.001$ اختلاف معنی‌داری داشته است.



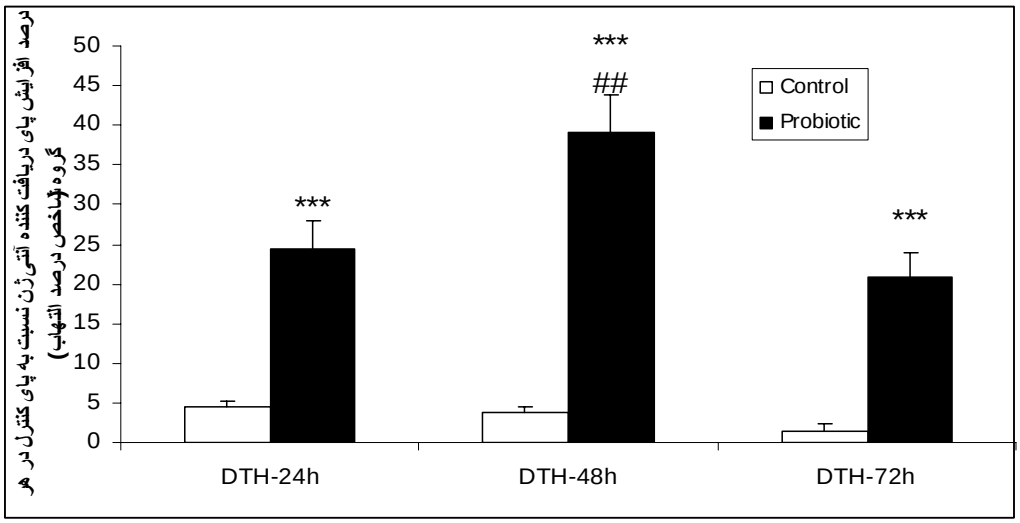
نمودار شماره (۱): منحنی سیر رشد تومور در دو گروه کنترل و گروه دریافت کننده پروبیوتیک



نمودار شماره (۲): نمودار حجم نهایی تومور در دو گروه کنترل و دریافت کننده پروبیوتیک ($p<0.001$ ***).

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 11:38 +0330 on Sunday December 24th 2017

نتایج بررسی DTH: طبق نتایج بدست آمده التهاب در گروه دریافت کننده باکتری مشهود بود که حداکثر میزان التهاب بعد ۴۸ ساعت اندازه گیری گردید و بعد از ۷۲ ساعت به میزان قبلی خود کاهش یافت. نتایج به دست آمده نشان داد که در گروه دریافت کننده باکتری، ۴۸ ساعت پس از تزریق اختلاف قابل توجهی نسبت به گروه کنترل وجود دارد ($p<0/05$). در نمودار۳ این مقادیر نشان داده شده‌اند.

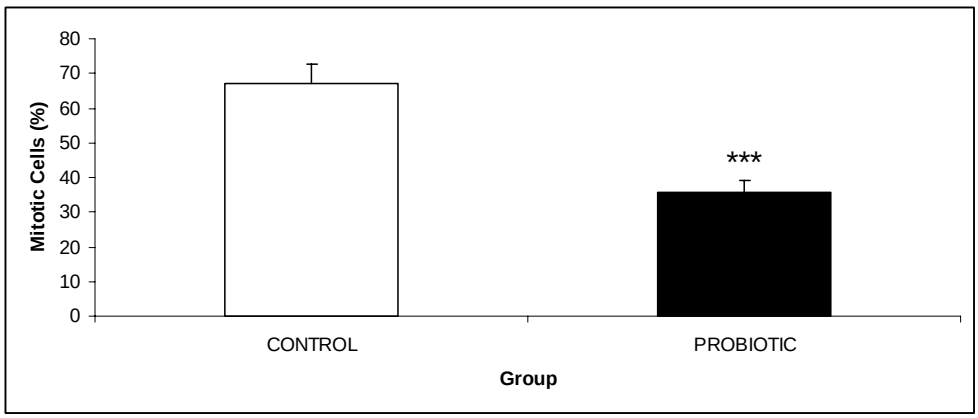


نمودار شماره (۳): منحنی درصد افزایش حجم پای تحت تزریق آنتی ژن (شاخص درصد التهاب) در گروه دریافت کننده پروبیوتیک تست DTH در سه روز متوالی

*** $p<0.001$ تفاوت آماری نسبت به گروه کنترل

$p<0.01$ تفاوت آماری نسبت به داده‌های قبلی در همان گروه

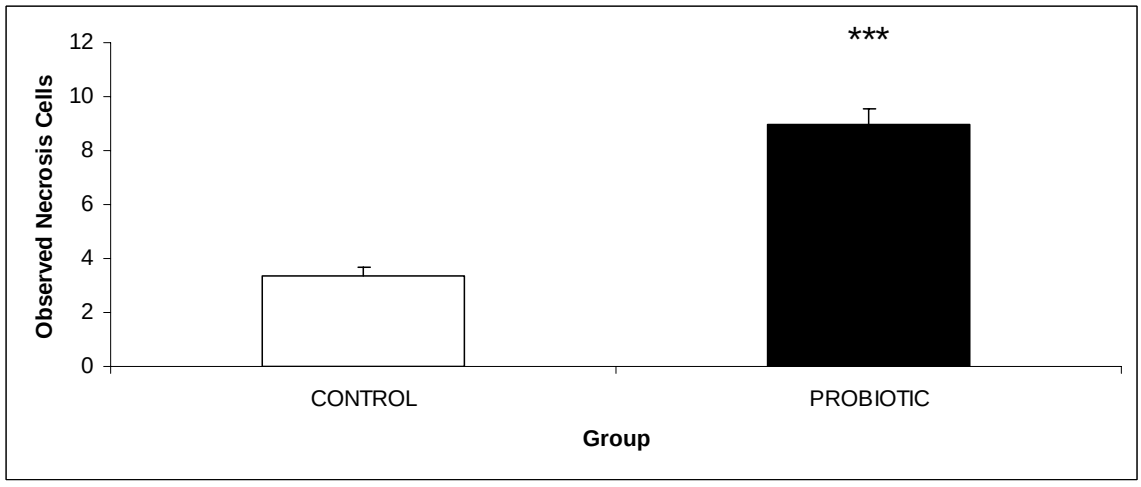
نتایج هیستوپاتولوژی بافت تومور در گروه‌ها: از بافت توموری که داخل فرمالین ۱۰ درصد بود طبق روش کار استاندارد و مرسوم آزمایشگاه‌های پاتولوژی، لایم میکروسکوپی تهیه و با رنگ امیزی هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) رنگ شده و میزان نکروز داخل بافت توموری بررسی می‌شد. این نتایج نشان دهنده افزایش معنی‌دار ($p<0.001$) میزان نکروز داخل تومور در اثر تقویت پاسخ‌های ضد توموری در موش‌های گروه گیرنده پروبیوتیک در مقایسه با گروه کنترل بوده است. همچنین ارتشاح سلول‌های دفاعی و کاهش اشکال فعال میتوزی و افزایش میزان نکروز بافتی در داخل بافت تومور گروه گیرنده پروبیوتیک مشاهده شد. آنالیز داده‌های پاتولوژیک بر اساس میزان کاهش اشکال فعال میتوزی و افزایش میزان نکروز در شکل‌های ۱ و ۳ و نمودارهای ۴ و ۵ نشان داده شده است.



نمودار شماره (۴): نمودار میزان اشکال فعال میتوزی در دو گروه کنترل و دریافت کننده پروبیوتیک

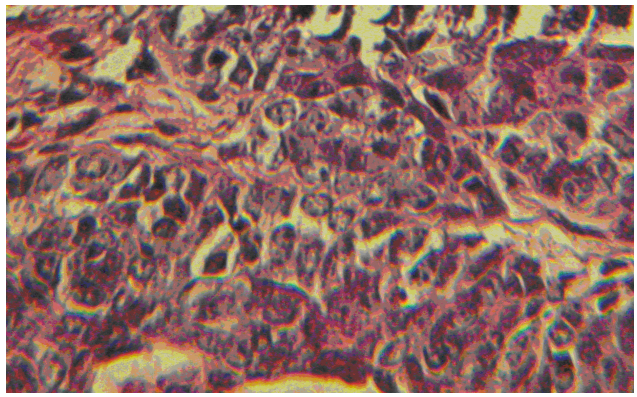
*** $p<0.001$ تفاوت آماری نسبت به گروه کنترل

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 11:38 +0330 on Sunday December 24th 2017

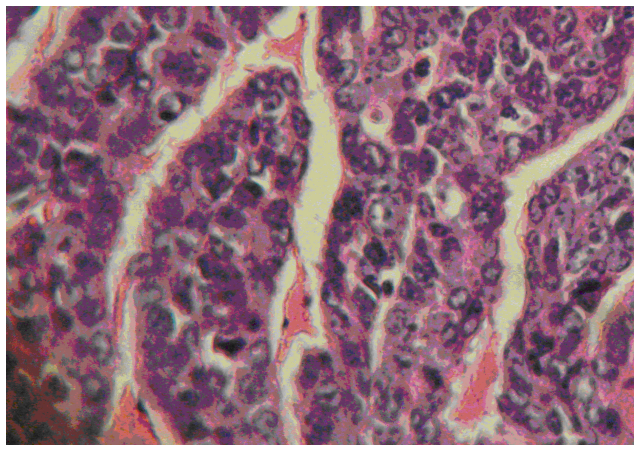


نمودار شماره (۵): نمودار میزان نکروز بافتی در دو گروه کنترل و دریافت کننده لاکتوباسیلوس رامنوسوس در میدان‌های میکروسکوپی مشاهده شده

$p<0.001$ *** تفاوت آماری نسبت به گروه کنترل

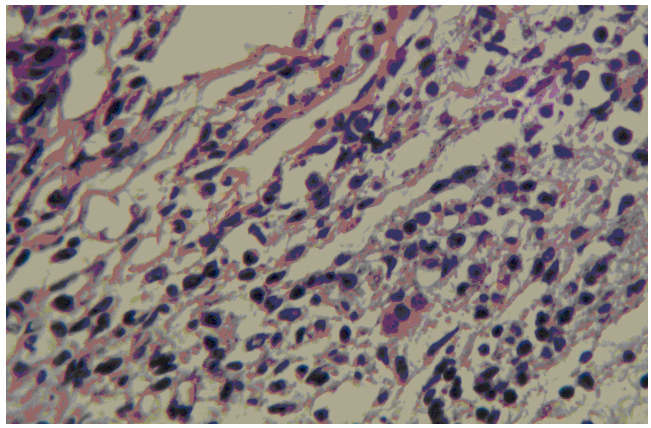


شکل شماره (۱): توده سرطانی همراه با اشکال میتوزی فراوان در گروه کنترل (بزرگنمایی ۴۰۰ برابر)



شکل شماره (۲): کاهش میتوز به همراه نکروز سلولی در گروه دریافت کننده باکتری پروبیوتیک (بزرگنمایی ×۴۰۰)

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 11:38 +0330 on Sunday December 24th 2017



شکل شماره (۳): ارتشاح لنفوسیتی در اطراف توده سرطانی در گروه دریافت کننده پروبیوتیک(بزرگنمایی ×۴۰۰)

بحث

در بسیاری کشورها گروه بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان به عنوان دو عامل مهم مرگ و میر تلقی می‌شود. سالانه حدود ۷ میلیون نفر در جهان در اثر ابتلا به سرطان جان خود را از دست می‌دهند و برآورد می‌شود تا سال ۲۰۲۰ شمار موارد جدید ابتلا به سرطان در هر سال از ۱۰ میلیون نفر به ۱۵ میلیون نفر افزایش یابد. در سالیان اخیر توجه دانشمندان به منابع غذایی پیشگیری کننده بیشتر شده و بحث پروبیوتیک‌ها، پره بیوتیک‌ها و سیمبیوتیک‌ها از اهمیت فراوانی در درمان‌های غذایی سرطان پیدا کرده است. پروبیوتیک‌ها از طریق کاهش غلظت مدفوعی آنزیم‌ها و نمک‌های صفراوی و کاهش جذب موتاژن‌های مضر که عامل سرطان کولون هستند، نقش موثری در پیشگیری از بیماری‌ها بازی می‌کنند. به طور طبیعی روده از طریق آنزیم‌های Glycosidase، β-glucuronidase، Azoreductase و Nitroreductase پیش سرطان‌زاها را به سرطان‌زاهای فعال تبدیل می‌کند (۲۳-۲۱). پروبیوتیک‌ها به خصوص Lactobacillus acidophilus و Lactobacillus casei سبب کاهش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شوند. Bifidobacterium infantis با تحریک سیستم ایمنی میزبان توانایی سرکوب تومورها را دارد. در مدل‌های حیوانی تولید ترکیبات ضدموتاژن در کولون توسط Bifidobacterium longum مشاهده شده است. پروبیوتیک‌ها از طریق افزایش ایمونوگلوبین ترشحی A و تولید سیتوکین ها سبب تحریک سیستم ایمنی نیز می‌شوند. این ترکیبات همچنین از طریق افزایش فاگوسیتوز پاتوژن‌ها، سیستم ایمنی غیراختصاصی را تحریک یا تقویت می‌کنند. از مزایای پروبیوتیک‌ها در تحریک سیستم ایمنی، عدم ایجاد التهاب می‌باشد (۲۶-۲۴).

مطالعات کلینیکی نشان داده‌اند که از لاکتوباسیل‌های غیربیماری‌زا می‌توان در افزایش توان سیستم ایمنی، تقویت علایم سلولی سلول‌های T-helper در مسیر ضد آلرژی، ضد تومور و افزایش قدرت سیستم ایمنی در مقابله با میکروارگانیسم‌های بیماری زا استفاده نمود. احتمالاً فرآیند مذکور در برگیرنده سیتوکاین‌های فعال کننده سلول‌های T-Helper (Th) اولیه هستند. از جمله این سیتوکاین‌ها می‌توان به INFα/INFγ، IL-12 و IL-18 اشاره نمود. استفاده از باکتری باسیلوس رامنوسوس HNOOI در مدل‌های حیوانی نشان داده است که این باکتری می‌تواند یک عامل محرک سیستم ایمنی بوده و پاسخ‌های ایمنی مربوط به T-Helper را در جهت تقویت سیستم ایمنی پیش می‌برد (۲۹-۲۷). در برخی مطالعات نیز گزارش شده است که باسیلوس رامنوسوس به تنهایی یا در ترکیب با سایر باکتری‌ها یا عوامل پروبیوتیکی قادر است اثرات ضد تولید سرطان داشته و ضمن تقویت سیستم ایمنی در مبارزه با تومور قادر است در استفاده مداوم باعث عدم تولید سلول‌های توموری می‌گردد (۳۰).

برطبق نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر و با توجه به نوع پاسخ مورد نیاز بدن در مقابله با تومور که در واقع پاسخ‌های مربوط به لنفوسیت‌های Th1، سلول‌های T سایتو توکسیک و دیگر مکانیسم‌های سایتولیز سلول‌های توموری از جمله فعالیت سلول‌های NK می‌باشد، می‌توان این نتیجه را از پروبیوتیک بر کار آمدی بیشتر پاسخ‌های ایمنی و وضعیت دفاعی بدن در مقابل تومور دانست. افزایش میزان التهاب موضعی در تست DTH در موش‌های گیرنده پروبیوتیک می‌تواند نشان دهنده فعالیت بیشتر سلول‌های Th1 در موش‌ها باشد. در این تست در واقع بدن در مقابل آنتی ژنی قرار می‌گیرد که قبلاً با آن در تماس بوده است و این در واقع یک پاسخ ثانویه ناشی از عملکرد سلول‌های Th1

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 11:38 +0330 on Sunday December 24th 2017

خاطره‌ای می‌باشد که این التهاب کمی پس از تماس دوباره با آنتی ژن آغاز شده و بعد از ۴۸ ساعت از تماس به حداکثر التهاب خود رسیده و در ۷۲ ساعت التهاب فروکش می‌کند (۱۵). و این موضوع دلالت بر تقویت پاسخ سیستم ایمنی سلولی وابسطه به لنفوسیت‌های Th1 می‌باشد. همچنین داده‌ها و نتایج حاصل ازحجم نهایی تومور وکاهش سیر رشد تومور در گروه دریافت کننده باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس نسبت به گروه کنترل می‌تواند تاییدی بر فعال شدن و کارامدی سیستم ایمنی در مقابله با تومور و جلوگیری از رشد آن در نتیجه تجویز باکتری باشد.

با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه باید گفت می‌توان به نتایج رضایت بخش از انجام مطالعات انسانی با استفاده از این پروبیوتیک در تقویت سیستم ایمنی مبتلایان به این نوع سرطان امید وار بود و لیکن هنوز نیاز به مطالعات بیشتر برای شناخت دیگر مکانیسم‌ها واثرات دقیق‌تر پروبیوتیک‌ها بر پاسخ‌های ایمنی در مقابله با تومور وجود دارد.

References:

1. Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, et al. Cancer statistics-2005. CA-Cancer J Clin 2005; 55(1):10-30.
2. Stewart BW, Kleihues P. Breast cancer. World Cancer Report. Lyon: IARC Press: World Health Organization; 2003. P.188-93.
3. Ruddon RW. The epidemiology of human cancer. In: Ruddon RW, Editor. Cancer biology. 4th Ed. Oxford: Oxford University Press, Inc.; 2007. P.62-116.
4. Toi M, Ohashi Y, Seow A, Moriya T, Tse G, Sasano H, et al. The Breast Cancer Working Group presentation was divided into three sections: the epidemiology, pathology and treatment of breast cancer. Japanese J Clin Oncol 40(suppl_1): i13 - i18.
5. Sadjadi A, Nouraie M, Ghorbani A, Alimohammadian M, Malekzadeh R. Epidemiology of breast cancer in the Islamic Republic of Iran: first results from a population-based cancer registry. East Mediterr Health J 2009; 15(6): 1426-31.
6. Louwman WJ, Vulto JC, Verhoeven RH, Nieuwenhuijzen GA, Coebergh JW, Voogd AC. Clinical epidemiology of breast cancer in the elderly. Eur J Cancer 2007; 43(15):2242-52.
7. Morrow M, Jordan C. Prevention of breast cancer. In: Piccart MJ, Wood WC, Hung C-M, Solin LJ, Cardoso F, Editors. Breast cancer management and molecular medicine. Berlin: Springer; 2009. P.63-94.
8. Benson J, Jatoi I. Management options in breast cancer-case histories, best practice, and clinical decision-making. London: Informa Healthcare USA, Inc.; 2009.
9. de Moreno de Leblanc A, Matar C, Farnworth E, Perdigon G. Study of immune cells involved in the antitumor effect of kefir in a murine breast cancer model. J Dairy Sci 2007; 90(4):1920-28.
10. Xing PX, Poulos G, McKenzie IF. Breast cancer in mice: effect of murine MUC-1 immunization on tumor incidence in C3H/HeOuj mice. J Immunother 2001; 24(1):10-18.
11. Rayter Zenon MJ. Medical therapy of breast cancer. New York: Cambridge University Press; 2003.
12. Sypniewska RK, Hoflack L, Tarango M, Gauntt S, Leal BZ, Reddick RL et al. Prevention of metastases with a Mage-b DNA vaccine in a mouse breast tumor model: potential for breast cancer therapy. Breast Cancer Res Tr 2005; 91(1):19-28.
13. Saikali J, Picard C, Freitas M, Holt P. Fermented milks, probiotic cultures, and colon cancer. Nutr Cancer 2004; 49(1):14-24.
14. Hirayama K, Rafter J. The role of probiotic bacteria in cancer prevention. Microbes Ifect 2000; 2(6):681-6.
15. Gill H, Grover S, Batish V, Gill P.Immunological Effects of Probiotics and their Significance to Human Health. In: Charalampopoulos D, Rastall

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 11:38 +0330 on Sunday December 24th 2017

RA, Editors. Prebiotics and probiotics science and technology. New York: Springer; 2009.P. 901-48.

16. Matsuzaki T, Chin J. Modulating immune responses with probiotic bacteria. Immunol Cell Biol 2000; 78(1):67-73.
17. Naidu AS, Bidlack WR, Clemens RA. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). CRC Cr Rev Food Sci 1999; 39(1):13-126.
18. Felis G, Dellaglio F, Torriani S. Taxonomy of Probiotic Microorganisms. In: Charalampopoulos D, Rastall RA, Editors. Prebiotics and probiotics science and technology. New York: Springer; 2009. P.591-638.
19. de Moreno de LeBlanc A, Matar C, Theriault C, Perdigon G. Effects of milk fermented by Lactobacillus helveticus R389 on immune cells associated to mammary glands in normal and a breast cancer model. Immunobiology 2005; 210(5):349-58.
20. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. Altern Med Rev 2003; 8(3):223-46.
21. Brown AC, Valiere A. Probiotics and medical nutrition therapy. Nutr Clin Care 2004; 7(2):56-68.
22. Grajek W, Olejnik A, Sip A. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. Acta biochimica Polonica 2005; 52(3):665-71.
23. Heller KJ. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. The Am J Clin Nutr 2001; 73(2 Suppl):374S-9.
24. Cammarota M, De Rosa M, Stellavato A, Lamberti M, Marzaioli I, Giuliano M. In vitro evaluation of Lactobacillus plantarum DSMZ 12028 as a probiotic: emphasis on innate immunity. Int Food Microbiol 2009; 135(2):90-8.
25. Reid G, Hammond JA. Probiotics: some evidence of their effectiveness. Can Fam Physician 2005; 51:1487-93.
26. Botes M, van Reenen CA, Dicks LM. Evaluation of Enterococcus mundtii ST4SA and Lactobacillus plantarum 423 as probiotics by using a gastro-intestinal model with infant milk formulations as substrate. Int J Food Microbiology 2008; 128(2):362-70.
27. Cross ML, Mortensen RR, Kudsk J, Gill HS. Dietary intake of Lactobacillus rhamnosus HNOO1 enhances production of both Th1 and Th2 cytokines in antigen-primed mice. Med Microbiol Immunol 2002; 191(1):49-53.
28. Cross ML. Immune-signalling by orally-delivered probiotic bacteria: effects on common mucosal immunoresponses and protection at distal mucosal sites. Int J Immunopath Ph 2004; 17(2):127-34.
29. Yu J, Jang SO, Kim BJ, Song YH, Kwon JW, Kang MJ, et al. The Effects of lactobacillus rhamnosus on the prevention of asthma in a murine model. Allergy Asthma Immunol Res 2010; 2(3):199-205.
30. Femia AP, Luceri C, Dolara P, Giannini A, Biggeri A, Salvadori M et al. Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics Lactobacillus rhamnosus and Bifidobacterium lactis on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. Carcinogenesis 2002; 23(11):1953-60.