Downloaded from journal.fums.ac.ir at 8:59 +0430 on Thursday June 22nd 2017

مقاله پژوهشی

اثرات باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم بر تکثیر رده سلولی K562

لیلا زارعی[1*]، سید میثم ابطحی فروشانی[2]، عاطفه قراجه داغی هرگلان[1]، هادی اسمعیلی گورچین قلعه[2]

۱- مرکز تحقیقات سالید تومور، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
۲- گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۳/۲۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۹/۲۹

چکیده

زمینه و هدف: در مطالعات گذشته به اثرات مفید مصرف خوراکی باکتری‌های پروبیوتیک در درمان برخی از سرطان‌های گوارشی اشاره شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات مستقیم عصاره دیواره سلولی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم بر تکثیر رده سلولی سرطانی اریتروميلوئیدی انسانی K562 است.

مواد و روش‌ها: پس از کشت باکتری‌ها و آماده‌سازی فراکشن دیواره سلولی، رقت‌های ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از دیواره سلولی باکتری‌ها در شرایط استریل تهیه شد. سلول‌های سرطانی K۵۶۲ و سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) به شیوه مرسوم و در مجاورت با رقت‌های فوق از عصاره دیواره سلولی باکتری‌ها و غلظت ۰/۱ میلی‌مولار دکسوروبیسین کشت داده شدند. جهت سنجش خاصیت ضد سرطانی عصاره فوق، از آزمون MTT استفاده گردید. جهت تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها از آزمون **T**student- نرم‌افزار SPSS-21 استفاده گردید.

نتایج: حداقل غلظت مؤثر عصاره باکتری بر روی زنده‌مانی سلول‌های K۵۶۲ و PBMC به ترتیب ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر است (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: عصاره باکتری به‌صورت انتخابی، منجر به مرگ بیشتر سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های PBMC شده است.

کلمات کلیدی: سلول K562، باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، سلول های تک‌هسته‌ای خون محیطی

مقدمه

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده و مفیدی هستند که در صورت مصرف انسان با اثر بر فلور میکروبی بدن باعث بروز اثرات مفیدی بر سلامتی میزبان می‌شوند. اغلب پروبیوتیک‌ها متعلق به گروه باکتری‌های اصلی فلور میکروبی روده انسان بوده و در آنجا زندگی همسفره‌گی بی‌ضرری دارند (۱ و ۲). پروبیوتیک‌ها به دو گروه قارچ‌ها و باکتری‌ها تقسیم‌بندی می‌شوند. بعضی از این میکروارگانیسم‌ها سویه‌های انتخابی باکتری‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم هستند، اگرچه گونه‌هایی از انتروکوک‌ها، استرپتوکوک‌ها و اشرشیاکلای نیز برای این منظور استفاده می‌شوند. از بین مخمرها نیز ساکارومیسس سرویزیه، ساکارومیسس بولاردی و کاندیدا اینتولایسرا را می‌توان به‌عنوان پروبیوتیک نام برد (۳-۵). لوسمی در اثر تکثیر و تکامل ناقص گویچه‌های سفید خون به وجود می‌آید. واژه لوسمی به معنی خون سفید بوده و یکی از چهار سرطان شایع در میان کودکان محسوب می‌گردد. در این بیماری تولید گویچه‌های طبیعی خون متوقف‌شده و بدن توانایی خود را در مقابله با بیماری‌ها از دست می‌دهد. این بیماری بر اساس نوع سلولی که دچار سرطان می‌شود، به دودسته‌ی لنفوئیدی و میلوئیدی تقسیم می‌گردد. هر دو نوع لوسمی به انواع حاد و مزمن تقسیم می‌گردند (۶، ۷). سلول‌های K۵۶۲، جزو سلول‌های لوسمیک با منشأ میلوئیدی و از رده اریترولوکمیایی بوده (۸) و نخستین بار از یک خانم ۵۳ ساله و مبتلا به لوسمی میلوئیدی مزمن جداسازی شده‌اند. این سلول‌ها، غیر چسبنده و گرد بوده و دچار جابجایی بین دو ژن ***BCR*** و ***ABL*** شده‌اند (۹). بسیاری از سرطان‌ها در ابتدا به شیمی‌درمانی پاسخ می‌دهند ولی پس از مدتی در مقابل اثرات داروهای مورداستفاده در شیمی‌درمانی، از خود مقاومت نشان می‌دهند (۱۰). به‌علاوه داروهای شیمی‌درمانی عوارض نامطلوبی دارند (۱۱). بیشتر باکتری‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بی‌خطر تشخیص داده شده‌اند. به‌جز استرپتوکوک‌ها و انتروکوک‌ها، سایر باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک به‌ندرت برای انسان و حیوانات بیماری‌زا بوده و کاربرد آن‌ها از

* **نویسنده مسئول: لیلا زارعی**، مرکز تحقیقات سالید تومور، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
Email:Leilazarei652@yahoo.com

Downloaded from journal.fums.ac.ir at 8:59 +0430 on Thursday June 22nd 2017

دیرباز در تهیه محصولات غذایی، بدون ایجاد اثرات سوء به اثبات رسیده است (۵). شواهد نشان داده‌اند که پروبیوتیک‌ها با تأثیر بر آنزیم‌های گوارشی، مهار عوامل سرطان‌زا و خنثی کردن ترکیبات القاکننده سرطان در حیوانات آزمایشگاهی، نقش مؤثری در مقابله با این بیماری ایفا می‌کنند (۱۲). فراکشن‌های پروتئینی دیواره سلولی لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی قادرند به‌طور معنی‌داری رشد سلول‌های سرطانی K۵۶۲ را مهار کنند (۱۳). باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس، نکروز داخل سرطانی را در موش-های مبتلا به سرطان پستان افزایش می‌دهند. افزایش پاسخ ازدیاد حساسیت تأخیری ۴۸ ساعته و تحریک سلول‌های Th1 مکانیسم‌های احتمالی این اثر می‌باشند (۱۴). عصاره سیتوپلاسمی لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی قادر است که رشد سلول‌های سرطانی K ۵۶۲ را مهار کند. سمیت سلولی به‌عنوان مکانیسم این اثر مطرح است (۹). میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک قادر به کاهش فعالیت آنزیم-های مضر روده‌ای هستند که منشأ میکروبی یا غذایی دارند که ترکیبات پیش ساز دخالت کننده در ایجاد سرطان را به ترکیبات سرطان‌زا تبدیل می‌کنند. ازجمله این آنزیم‌ها می‌توان به بتاگلوکورونیداز، نیتروردوکتاز، گلیکوزیداز، هیدرولاز، آزوردوکتاز اشاره نمود که سبب کاهش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شوند. باکتری‌های اسیدلاکتیک موجود در شیرهای تخمیری می‌توانند اثر مهارکننده، روی گسترش زخم‌های پیش سرطانی و تومورها در مدل حیوانی داشته باشند. عصاره سیتوپلاسمی باکتری‌های Bifidobacterium و Lactobacillus caseiتأثیر مستقیمی بر مهار رشد رده سلول‌های سرطانی دارند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات عصاره دیواره سلولی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم بر تکثیر رده سلولی سرطانی اریتروميلوئیدی انسانی K۵۶۲ است.

مواد و روش‌ها

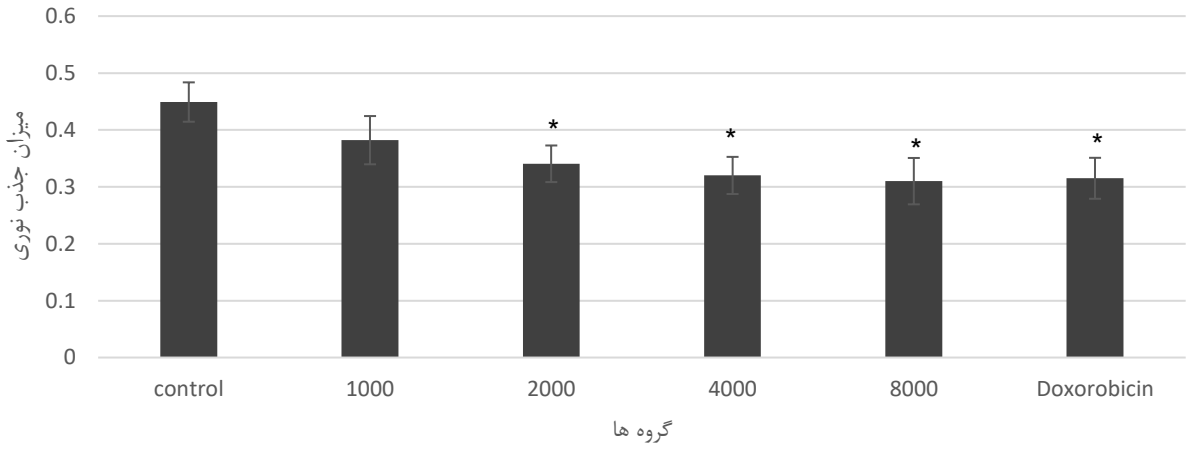
این مطالعه از نوع تجربی بوده و در سال ۱۳۹۴ در شرایط استاندارد کشت سلول دانشکده پزشکی دانشگاه ارومیه صورت گرفته است. باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید (PTCC (NO:1644 و سپس در محیط کشت MRS(Merck, Germany) به‌صورت روزانه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و کشت داده شد. پس از رشد بر اساس ایجاد کدورت محیط کشت، باکتری‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۵۰۰rpm و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شده و رسوب حاصله، دومرتبه با بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH:۶/۹ شستشو داده شد. سپس رسوب به‌دست‌آمده به مدت یک شبانه‌روز در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. سپس باکتری‌ها از حالت انجماد خارج و با بافر لیز کننده فسفات سدیم ۰/۱ مولار، pH:۷/۲ (۱۵) تیمار شدند. جهت تهیه عصاره دیواره سلولی، پس از خروج باکتری‌ها از حالت انجماد، به هر میلی‌لیتر سوسپانسیون سلولی ۱۰۰ میکرولیتر محلول لیز کننده افزوده شد. در مرحله بعد باکتری‌ها توسط دستگاه سونیکاتور و در حضور بافر لیز کننده تخریب شدند. در انتها نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد و با دور **rpm**۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ شده و رسوب حاصله به‌عنوان فراکشن دیواره سلولی در نظر گرفته شد. همچنین به رسوب حاصله نیز به‌منظور انحلال پروتئین‌های نامحلول ۱۰۰ میکرولیتر بافر لیزکننده افزوده شده و بار دیگر سانتریفیوژ گردید. سپس دیواره‌ها به مدت یک شبانه‌روز داخل دستگاه فریز درایر قرار داده شد تا خشک شوند. برای تهیه غلظت‌های مختلف از دیواره سلولی، مقادیر موردنیاز وزن شده و جهت استریل کردن به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه اتوکلاو شدند. رقت‌های ۱۰۰۰µg/ml، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ از دیواره سلولی در شرایط استریل تهیه گردید. برای جداسازی سلول-های تک‌هسته‌ای خون محیطی (۱۶) (به‌عنوان سلول نرمال) مقدار ۵۰ml خون هپارینه (200 ml/U) از ۳ نفر فرد داوطلب به‌ظاهر سالم و پس از اخذ رضایت کتبی از آن‌ها، گرفته شد. سلول‌های k۵۶۲ از بانک سلولی انستیتو پاستور تهیه و به شیوه مرسوم کشت داده شد و جهت سنجش خاصیت ضد توموری عصاره‌ی دیواره‌های سلولی با آزمون MTT (۱۷)، ابتدا سلول‌های k562 سانتریفیوژ و شمارش‌شده سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سلول‌های k562 با تراکم ۲۰۰۰۰ سلول در محیط کشت RPMI 1640 حاوی ۱۵ درصد FBS به چاهک-های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ته صاف اضافه شد. میکروپلیت به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شد، سپس ۲۰ میکرولیتر از محلول ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر MTT به‌تمامی چاهک‌ها اضافه گردید سپس پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت دیگر انکوبه گردیدند. در پایان، کریستال‌های رنگ فورمازان رسوب یافته در سیتوپلاسم سلول-

Downloaded from journal.fums.ac.ir at 8:59 +0430 on Thursday June 22nd 2017

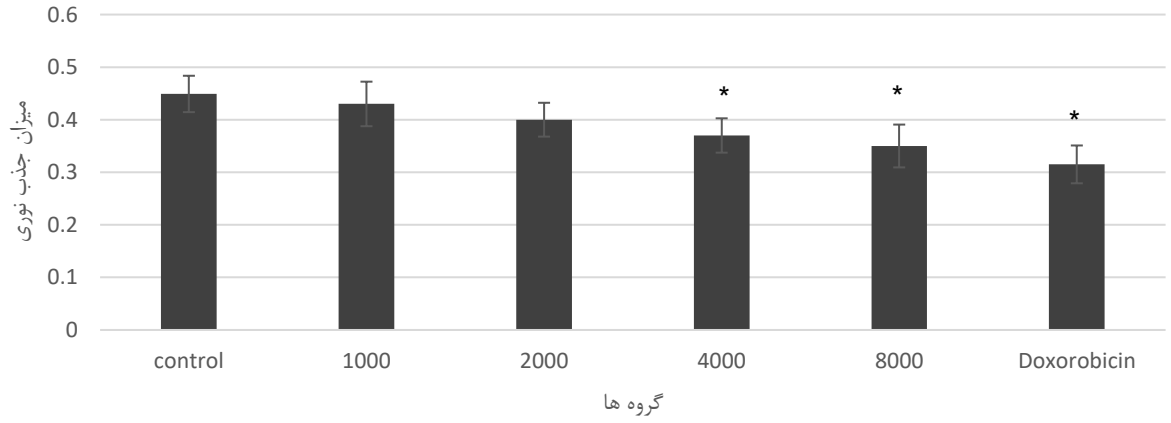
ها با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک، حل‌شده و شدت رنگ به روش الایزا در طول‌موج ۴۹۲ نانومتر ثبت شد. از داروی دوکسوروبیسن به غلظت یک‌دهم میلی‌مولار به‌عنوان کنترل مثبت استفاده در گردید. جهت مقایسه دو داده نقطه‌ای از آزمون T-student و چند داده از one way Anova استفاده شد. همچنین با استفاده از روش رگرسیون خطی IC50 برای سلول‌های k۵۶۲ و PBMC محاسبه گردید.

نتایج

طبق نمودار ۱ و ۲ دیواره سلولی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در مقایسه با گروه شاهد که هیچ‌گونه عصاره دیواره سلولی دریافت نکرده بودند، در تمامی غلظت‌ها سبب مهار رشد رده سرطانی k562 و سلول‌های PBMC مورد مطالعه گردید. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت دیواره سلولی، میزان مهار رشد سلول‌های سرطانی افزایش می‌یابد. هم‌چنین به‌صورت انتخابی میزان مهار رشد سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های PBMC بیشتر بود ($p<0/05$). غلظت دیواره سلولی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم با میزان زنده‌مانی سلول‌های k۵۶۲ قویاً رابطه خطی داشت ($Y=0/004x-91$ و با $R^2=۰/۸۹$). IC50 عصاره دیواره سلولی برای سلول‌های k۵۶۲ بر اساس مدل رگرسیون خطی mg/ml ۴±۱۰/۷به دست آمد (نمودار ۳). غلظت دیواره سلولی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم با میزان



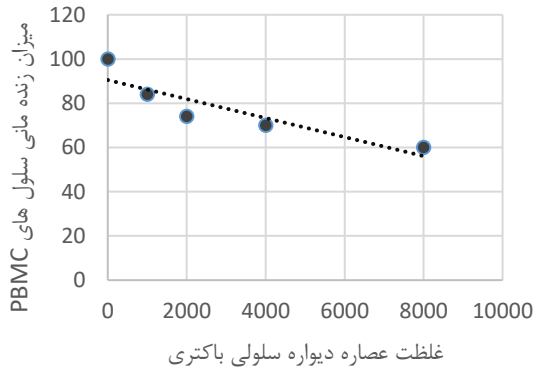
نمودار ۱- مقایسه اثر غلظت‌های (میکروگرم بر میلی‌لیتر) مختلف عصاره دیواره سلولی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و داروی دکسوروبیسین (۰/۱ میلی‌مولار) بر سلول‌های K562 بعد از ۴۸ ساعت مواجهه در تستMTT (نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل است).



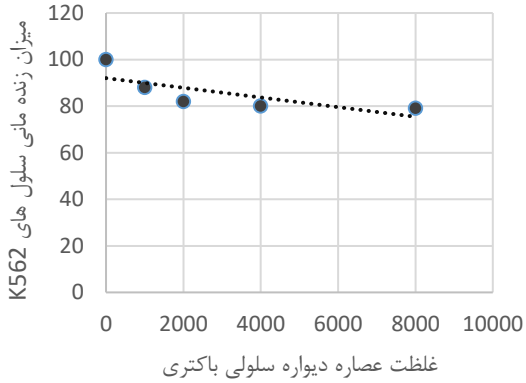
نمودار ۲- مقایسه اثر غلظت‌های (میکروگرم بر میلی‌لیتر) مختلف عصاره دیواره سلولی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و داروی دکسوروبیسین (۰/۱ میلی‌مولار) بر سلول‌های PBMC بعد از ۴۸ ساعت مواجهه در تست MTT (نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل است).

Downloaded from journal.fums.ac.ir at 8:59 +0430 on Thursday June 22nd 2017

زنده‌مانی سلول‌هایPBMC قویاً رابطه خطی داشت (IC50.(R^2=0/87 Y=0/002x-95/96) سلول‌های PBMC بر اساس مدل رگرسیون خطی ۹ ± ۲۲/۵ /mlmg بود (نمودار ۴).



نمودار ۳- میزان زنده‌مانی سلول‌های PBMC در مواجه با عصاره دیواره سلولی باکتری



نمودار ۴- میزان زنده‌مانی سلول‌های K562 در مواجه با عصاره دیواره سلولی باکتری

بین میزان IC50 در مورد PBMC و k۵۶۲ اختلاف معنی‌داری وجود داشت (p<0.001). بر اساس داده‌های حاصل از این مطالعه، درمجموع می‌توان استدلال کرد که عصاره دیواره سلولی در غلظت‌های ۲۰۰۰µg/ml و بالاتر از آن، دارای عملکردی مشابه با دوکسوروبیسین در محدوده غلظتی mM۱/۰ بر روی سلول‌های k۵۶۲ است. همچنین در غلظت-های ۲۰۰۰µ/ml و بالاتر از آن، عصاره دیواره سلولی این باکتری‌ها دارای عملکردی مشابه با دوکسوروبیسین در محدوده غلظتی ۰/۱mM بر روی سلول‌های PBMC است. غلظت عصاره دیواره سلولی قویاً با میزان زنده‌مانی سلول‌های k۵۶۲ و PBMC رابطه خطی و وارونه دارد.

دوکسوروبیسین در غلظت mM۱/۰ نسبت به عصاره دیواره سلولی باکتری فوق، به‌طور کاملاً مشخص، دارای اثرات سمیت سلولی بیشتری بر روی سلول‌های PBMC است (P<۰/۰۰۱).

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه‌ای تحت عنوان مهار رشد رده سرطانی K562 در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از فراکشن‌های پروتئینی دیواره سلولی پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی که در سال ۱۳۹۳ توسط باقری و همکاران وی انجام گرفت، مشخص شد که عصاره پروتئینی دیواره سلولی پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی، قادرند به‌طور معنی‌داری (P=0.046) رشد رده سلولی سرطانی k۵۶۲ را مهار کنند. نتایج آزمون MTT این مطالعه نشان داد که گروه تیمار شده نسبت به گروه شاهد دارای فعالیت سلول کشی بیشتری است که با افزایش غلظت میزان سلول کشی بیشتر می‌شد (۱۳)؛ که این مطلب مؤید نتایج حاصل از مطالعه حاضر بوده و نشان می‌دهد که عصاره دیواره سلولی باکتری‌های بیفیدوباکتریوم بیفیدوم نیز مانند عصاره پروتئینی دیواره سلولی باکتری‌های فوق اثرات ضد سرطانی دارند. در سال ۱۳۹۱ ریکی و همکاران وی پس از بررسی تأثیر عصاره دیواره سلولی باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی بر نتایج حاصل از تست MTT سلول-های رده سلولی سرطانی K۵۶۲ اعلام کردند که تعداد سلول-های سرطانی که در معرض دیواره سلولی قرارگرفته‌اند هیچ تأثیری بر نتایج حاصل از تست MTT نداشته و اثر سمیت سلولی دیواره سلولی پروبیوتیک‌ها، وابسته به گونه باکتری و غلظت دیواره سلولی است (۱۸). این مطالب با نتایج حاصل از مطالعه حاضر هم‌خوانی داشته و مؤید وابسته به غلظت بودن تأثیر سمیت سلولی در عصاره دیـواره سـلولی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم است. همچنین می‌توان گفت که باکتری‌های بیفیدوباکتریوم بیفیدوم نیز مانند لاکتوباسیل‌های کازئی و پاراکازئی دارای اثرات ضد سرطانی است.

قزل باش و همکاران وی در سال ۱۳۹۰ بیان کردند که تجویز درون معدی لاکتوباسیلوس رامنوسوس LMG ۱۸۲۴۳ در موش‌های ماده Balb/c (۴ تا ۶ هفته با وزن ۱۸ تا ۲۰ گرم)،

Downloaded from journal.fums.ac.ir at 8:59 +0430 on Thursday June 22nd 2017

بر روند رشد سلول‌های سرطانی پستان، اثر مهاری داشته و نتایج بررسی هیستوپاتولوژیک، بیانگر افزایش معنی‌دار نکروز داخل سرطانی در موش‌های گیرنده پروبیوتیک نسبت به موش‌های گروه کنترل بوده است. این موضوع نشانگر افزایش کارآمدی سیستم ایمنی این موش‌ها در برابر تومور است. پاسخ ازدیاد حساسیت تأخیری ۴۸ ساعته نیز در تحریک مجدد با آنتی‌ژن اختصاصی تومور در موش‌های فوق بیشتر از گروه کنترل بوده که این مورد نیز بیان‌کننده تحریک سلول‌های Th1 خاطره است. لذا می‌توان گفت، مصرف لاکتوباسیلوس رامنوسوس می‌تواند باعث تقویت پاسخ ایمنی علیه تومور شده و احتمالاً این پروبیوتیک می‌تواند به‌عنوان یک عامل حمایت‌کننده در درمان سرطان مطرح شود (۱۹). با توجه به اینکه در مطالعه حاضر نیز اثرات ضد سرطانی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در شرایط in vitro تأیید شده است، می‌توان گفت که علاوه بر مکانیسم‌های ذکرشده در بالا که مربوط به افزایش کارآمدی سیستم ایمنی بدن موش‌های گاواژ شده با پروبیوتیک‌ها در مقابله با سرطان است، مکانیسم سمیت سلولی نیز در عملکرد ضد سرطانی پروبیوتیک‌ها به طرز معنی‌داری نقش داشته است. این مطلب همچنین، در مورد مطالعه‌ای که قزل باش و همکاران وی در سال ۱۳۹۰ جهت بررسی اثر هم‌افزایی مهاری لاکتوباسیلوس رامنوسوس و داروی سیسپلاتین روی میزان تکثیر سلول‌های سرطانی موش‌های Balb/c مبتلا به سرطان پستان انجام دادند نیز صادق است. چراکه ایشان بیان کردند که تجویز پروبیوتیک، باعث کاهش معناداری در رشد تومور پستان در موش‌های گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد می‌گردد. یکی از دلایل اثرات ضد سرطانی لاکتوباسیل‌ها از طریق سیستم ایمنی بوده و نتایج حاصل از تست التهابی حساسیت تأخیری نیز حاکی از تحریک سیستم ایمنی توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس و مهار رشد تومور از این طریق است. همچنین در بررسی پاتولوژیک نمونه‌های بافتی، اثرات آنتی تومورال سیسپلاتین پس از تجویز پروبیوتیک، افزایش یافته بود. لذا استفاده از پروبیوتیک به‌عنوان درمان مکمل در درمان این نوع از سرطان پیشنهاد گردید (۲۰).

درنهایت می‌توان گفت که سمیت سلولی، هم‌افزایی با داروی سیسپلاتین و تحریک سیستم ایمنی علیه سلول‌های سرطانی، مکانیسم‌های تأییدشده‌ای هستند که پروبیوتیک‌ها از آن طریق موجب کاهش تکثیر سلول‌های سرطانی می‌گردند. در مطالعه کبیری و همکاران وی در سال ۱۳۸۹ بیان شد که عصاره سیتوپلاسمی لاکتوباسیل‌های جداشده از روده ماهی کپور معمولی (لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی) قادر است به‌طور معنی‌داری رشد سلول‌های سرطانی K۵۶۲ را مهار سازد. این در حالی است که دیواره سلولی لاکتوباسیل‌های فوق رشد سلول‌های K۵۶۲ را مهار نکرده بود. غلظت µ/ml ۸۳/۳۳ از عصاره سیتوپلاسمی این لاکتوباسیل‌ها، دارای بیشترین قدرت سلول کشی بود (۹). در مطالعه حاضر، برخلاف نتایج ذکرشده در مطالعه فوق، تأثیر ضد سرطانی دیواره سلولی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم که یک نوع پروبیوتیک است، به‌روشنی اثبات‌شده است؛ اما با توجه به نتایج ذکرشده در مطالعه ریکی (۱۸) و کبیری (۹) می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً تفاوت مشاهده‌شده در نتایج مطالعه حاضر، ناشی از تفاوت در نوع پروبیوتیک استفاده‌شده در هرکدام از مقالات بوده است.

در سال ۲۰۰۶، Choi و همکاران وی اعلام کردند که سلول‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و اجزای پلی ساکاریدی محلول در عصاره سلولی آن یک آنتی‌اکسیدان قوی می‌باشند. پلی ساکاریدهای محلول حاصل از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۶۰۶ دارای اثرات ضد سرطانی بسیاری بوده و دارای یک اثر انتخابی قوی بر روی سلول‌های سرطانی شده و سلول‌های سالم انسانی می‌باشند (۲۱). این مطلب مؤید نتایج حاصل از مطالعه حاضر بوده و اثرات دوگانه مشاهده‌شده از عصاره را توجیه می‌نماید.

درنهایت با توجه به نتایجی که از این مطالعه به‌دست‌آمده است می‌توان گفت که عصاره دیواره سلولی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم به‌صورت وابسته به غلظت بر روی سلول‌های سرطانی اریتروميلوییدی انسانی K562 دارای اثر سمیت سلولی معناداری است. درحالی‌که عصاره فوق اثرات سمیت سلولی واضحا کمتری بر روی سلول‌های غیر سرطانی PBMCs داشته است. لذا امکان استفاده از این عصاره جهت مطالعات in vivo معقول به نظر رسیده و انتظار می‌رود که عصاره فوق دارای wide thrapiutic index در مطالعات in vivo احتمالی باشد. لذا جهت تکمیل اطلاعات بالینی و امکان استفاده از این ماده انسان توصیه می‌شود که مطالعات in vivo بر روی حیوانات آزمایشگاهی صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب قدردانی خود را از مرکز تحقیقات سالید تومور دانشگاه علوم پزشکی ارومیه اعلام می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

Downloaded from journal.fums.ac.ir at 8:59 +0430 on Thursday June 22nd 2017

References

1. Zhang ZF, Kim IH. Effects of multistrain probiotics on growth performance, apparent ileal nutrient digestibility, blood characteristics, cecal microbial shedding, and excreta odor contents in broilers. Poultry science, 2014; 93(2): 364–370.
2. Campieri M, Gionchetti P. Bacteria as the cause ofulcerative colitis. Gut. 2001;48(1): 132-5.
3. Ooi LG, Liong MT. Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: A review of in Vivo and in Vitro Findings. International Journal of Molecular Sciences, 2010; 11(6): 2499-522.
4. Stanton C, Gardiner G, Meehan H, Collins K, Fitzgerald G, Lynch PB, et al. Market potential forprobiotics. Am J Clin Nutr. 2001; 73(2 Suppl):476-83.
5. Morseli P. The role of probiotics in health. AJA University of Medical Sciences. 2008;3(2): 21-7. [in Persian]
6. Mahmoud Abadi A. Leukemia (Blood cancer). Mashhad: Kerdegari Publisher; 2008. p. 11-55. [in Persian]
7. Ooi LG, Liong MT. Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: A review of in Vivo and in Vitro Findings. International Journal of Molecular Sciences. 2010; 11(6): 2499-522.
8. Ekert H, Jurk IH, Waters KD, Tiedemann K. Prophylactic co-trimoxazole and lactobacilli preparation in neutropenic patients. Med Pediatr Oncol. 1985;8(1):47-51.39
9. Kabiri F, Nejati V, Tokmechi A, Deliraj N. inhibition of human chronic myelogenous leukemia K562 cancer cell growth using lactobacillus cytoplasmic extracts isolated from the intestine of common carp in vitro. Tehran University Medical Journal. 2007;68(12):691. [In Persian]
10. Brown JP, Josse RG. clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. Canadian Medical Association Journal. 2002;167(15 suppl):1-34.
11. Aad G, Abbott B, Abdallah J, Abdelalim A, Abdesselam A, Abdinov O, et al. Electron performance measurements with the ATLAS detector using the 2515 LHC proton-proton collision data. The European Physical Journal C. 2012;72(3):1-46.
12. Burns AJ, Rowland IR. Anti-carcinogenicity of probiotics and prebiotics. Curr Issues Intest Microbiol. 2000; 1(1): 13-24.
13. Bagheri M, Mohammadzadeh M, Tukmechi A. In-Vitro Growth Inhibition of K562 Cell Line with Cell Wall Protein Fraction of Lactobacillus Casei and Lactobacillus Paracasei. J Isfahan Med Sch. 2014; 32(293): 1081-92[In Persian].
14. Gezelbash B, Gaderipakdel F, Mohamad hasan Z, Zareh S, Tokmehchi A, Hobenagi R, et al. Effect of Lactobacillus rhamnosus LMG 18243 on breast cancer growth in mice inbred BALB / c. Urmia medical journal. 2010;3(22):230-238. [In Persian]
15. Mokriani S, Tukmechi A, Nojavan M. Growth inhibition of K562 cell line by extracted cell wall from Saccharomyces cerevisiae and S. boulardi as probiotic with zinc nanoparticles. Razi Journal of Medical Sciences.2015; 22(132):35-45. [In Persian]
16. Hosseini SE, Deliraj N, Afzal Ahangaran N. Effect of Royal Jelly on Peripheral Blood Mononuclear Cells Cytotoxicity against the K562 Erythroleukemia Cell Line. J Mazandaran Univ Med Sci. 2014; 24(114): 1-7. [In Persian]
17. Abtahi Froushani SM, Esmaili gouvarchin Galee H, Khamisabadi M, Lotfallahzade B. Immunomudulatory effects of hydroalcoholic extract of Hypericum perforatum. Avicenna J Phytomed. 2015; 5 (1): 62-68.
18. Riki M, Farokhi F, Tukmechi A. The best time of cytotoxicity for extracted cell wall from Lactobacillus casei and paracasei in K562 cell line. Tehran University Medical Journal.2013;70(11): 691-699. [In Persian]
19 .Ghezelbash B, Mohammad Hassan Z, Ghaderi Pakdel F, Zare S. Synergistic inhibition of lactobacillus rhamnosus and cisplatin on the multiplication of tumoral cells in BALB/C mice with breast cancer. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 2011; 19(5): 701-10. [In Persian]
20. Harris CC. Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for the 1995s. Cancer Research. 1991;51(18 Supplement):5523.
21. SS Choi, Y Kim, KS Han, S You, S Oh, SH Kim. Effects of Lactobacillus strains on cancer cell proliferation and oxidative stress in vitro. The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology. 2006; 42(5) 452–4.

Downloaded from journal.fums.ac.ir at 8:59 +0430 on Thursday June 22nd 2017

Original Article

The Effects of Bifidobacterium Bifidum (BBCWF) on Proliferation of K562 Cell Line

Zarei L[1]*, Abtahi Froushani SM[2], Grajehdagi A[1], Esmaeili Gouvarchin Ghaleh H[2]

1- Solid Tumor Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
2- Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 16 Jun 2016 Accepted: 19 Dec 2016

Abstract

Background & Objective: In the previous studies, the beneficial effects of oral administration of probiotic bacteria in treatment of some gastrointestinal cancer have been documented. The main aim of this study was to evaluate the direct effects of the bacterial cell wall extract *Bifidobacterium bifidum* on proliferation of human erythromyeloid cancer cell line K562.

Material & methods: After culturing the bacteria, and preparing cell wall fractions, dilutions of 1000, 2000, 4000 and 8000 µg/ml bacteria cell walls were prepared in sterile conditions. K562 cells and peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were cultured in a conventional manner in the presence of different concentrations of bacteria from cell wall extract with the doxorubicin concentration of 0.1 mM. In order to assess the anticancer property of the abovementioned extract the MTT test was utilized. The T-Student test was used in order to analyze the data using SPSS 21.

Results: The minimum effective concentration of bacteria extract on the viability of K562 cells and PBMC was 2000 and 4000 µg/ml, respectively.

Conclusion: The selected bacterial extract killed more cancer cells than PBMC cells.

Keywords: K562, Bifidobacterium Bifidum cell wall fraction, peripheral blood mononuclear cell

***Corresponding author: Leila Zarei**, Solid Tumor Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran, Email:Leilazarei652@yahoo.com