Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 4:41 +0430 on Monday June 18th 2018

مقاله پژوهشی

بررسی اثر محافظت بخش تجویز لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی درکاهش شدت عفونت ناشی از کاندیدا آلبیکنس در مدل موشBALB/c

فاطمه حجاری طاهری[۱]، محمدحسین یزدی[۲]، دکتر مهدی مهدوی[۳]، دکتر محمدعلی شکرگزار[٤]،
دکتر منصور بیات[٥]، دکتر محسن ابوالحسنی[٦]*

تاریخ دریافت: 1391/06/22 تاریخ پذیرش: 1391/09/25

چکیده

پیش زمینه و هدف: کاندیدیازیس یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های قارچی فرصت طلب در انسان می‌باشد. پروبیوتیک‌ها باکتری‌های مفید هستند و مطالعات متعددی نشان داده است که اثرات ایمونومدولاتوری وسیعی در طیفی از بیماری‌ها دارند. در این پژوهش اثر محافظت بخش تجویز لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی درکاهش شدت عفونت ناشی از کاندیدا آلبیکنس در مدل موشBALB/c مورد بررسی قرار می‌گیرند.

مواد و روش کار: تجویز روزانه پروبیوتیک‌ها ($۲/۴ \times ۱۰^{۸}$ باکتری) در موش‌های Balb/c به مدت یکماه از طریق دهان صورت گرفت و سپس موش‌ها توسط ۲×۱۰^{۶} سلول کاندیدا آلبیکنس از طریق دم آلوده شدند. موش‌های آلوده دوباره به مدت ۲ هفته روزانه پروبیوتیک داده شد و پس از کشتن موش‌ها، سلول‌های طحال جدا و در حضور مایتوژن فیتوهماگلوتینین کشت داده شدند. در محیط کشت سلول، میزان سایتوکاین های IL-12, IL-4، TGF-β و IFN -γ توسط ELISA مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهند که تنها در گروه دریافت کننده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس میزان IL-4 و IL-12افزایش داشته در حالیکه میزان TGF-β در کلیه موش‌های عفونی افزایش پیدا نمود. نتایج همچنین نشان می‌دهند که با دوزهای به کار رفته، پروبیوتیک‌ها توانایی افزایش تکثیر سلول‌های لنفوسیتی و افزایش بقای موش‌ها را ندارند.

بحث و نتیجه گیری: یافته‌ها نشان می‌دهند که در مدل موشی با دوزهای به کار رفته پروبیوتیک‌ها به عنوان یک عامل پیشگیری کننده موثر هستند ولی از نظر ایمونولوژیک برای درمان از کارائی لازم جهت مقابله با عفونت کاندیدا آلبیکنس برخوردار نمی‌باشند.

کلید واژگان: پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، کاندیدا آلبیکنس

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و سوم، شماره هفتم، ص ۷۹۱-۷۸٤، ویژه‌نامه اسفند ۱۳۹۱

آدرس مکاتبه: انستیتو پاستور ایران، آزمایشگاه هیبریدوما، بخش ایمونولوژی، خیابان پاستور، تهران ۱۳۱۶۴. تلفن و فکس: ۶۶۴۹۲۵۹۶
Email: mabolhassani@yahoo.com

[۱] کارشناس ارشد سلولی ملکولی، انستیتو پاستور ایران، آزمایشگاه هیبریدوما، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، حصارک، تهران
[۲] دانشجوی دکترا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده دارو سازی
[۳] استادیار ایمونولوژی، انستیتو پاستور ایران، بخش ویروس شناسی
[٤] دانشیار بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، بخش بانک سلولی
[٥] دانشیار قارچ شناسی، دانشکده علوم دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، حصارک، تهران
[٦] استاد ایمونولوژی، انستیتو پاستور ایران، آزمایشگاه هیبریدوما ، بخش ایمونولوژی

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 4:41 +0430 on Monday June 18th 2018

مقدمه

کاندیدا آلبیکنس عضوی از فلور نرمال بسیاری از پستانداران می‌باشد (۱). نقص در سیستم ایمنی ممکن است مادرزادی یا اکتسابی باشد که منجر به رشد بیش از اندازه جمعیت کاندیدا آلبیکنس در مجاری گوارشی شده و کاندیدیازیس مخاطی و یا سیستمیک ایجاد می‌نماید (۲, ۳). به دلیل افزایش درمان‌های سرکوب کننده سیستم ایمنی در انواع سرطان‌ها عفونت‌های ناشی از کاندیدا البیکنس افزایش قابل توجهی داشته (۴). در ایالات متحده آمریکا گونه کاندیدا چهارمین علت عفونت‌های بیمارستانی بوده و حدود ۲۵ تا ۵۰ درصد عفونت‌های بیمارستانی را در بخش مراقبت‌های ویژه و ۸ تا ۱۵ درصد کل عفونت‌های بیمارستانی را تشکیل می‌دهد (۵).

مطالعات بیشماری کارآمدی پروبیوتیک‌ها را در پیشگیری و درمان عفونت‌های کاندیدا آلبیکنس بررسی کرده‌اند (۶-۹) و مطالعات روی حیوانات آزمایشگاهی نیز مفید بودن پروبیوتیک‌ها را در پیشگیری از کاندیدیازیس نشان داده‌اند (۷).

پروبیوتیک‌ها در حقیقت باکتری‌های مفید دستگاه گوارش هستند که با ایجاد تعادل بین سیستم ایمنی و دستگاه گوارش اثرات سودمندی بر سلامت میزبان دارند (۱۰). بنا بر تعریف سازمان بهداشت جهانی پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسمهای زنده‌ای هستند که مصرف کافی آن‌ها بر سلامت میزبان اثرات سودمندی دارد (۱۱). این میکروارگانیسم ها خواص ایمونومدولاتوری داشته و روی سیستم ایمنی اثرات تحریک کنندگی و تقویت کنندگی بر جا می‌گذارند (۱۲). لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکترها شایع‌ترین پروبیوتیک‌های مورد استفاده در صنایع لبنی می‌باشند. مطالعات گذشته نشان می‌دهند که نژادهای مختلف لاکتوباسیلوس ها در افزایش بقا و کاهش استقرار کاندیدا آلبیکنس تاثیر به سزائی دارد (۱۳، ۱۴). در این مطالعه اثر محافظت بخش تجویز لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی درکاهش شدت عفونت ناشی از کاندیدا آلبیکنس در مدل موشBALB/c مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش کار

حیوانات آزمایشگاهی: تعداد ۴۰ سر موش BALB/c (۶ تا ۸ هفته‌ای ماده) از انستیتو پاستور ایران تهیه و در شرایط استاندارد نگهداری حیوانات آزمایشگاهی (۱۲/۱۲ روشنایی تاریکی، آب و غذا در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

میکروارگانیسم: نژاد کاندیدا آلبیکنس از بخش قارچ شناسی انستیتو پاستور ایران تهیه شد و در شرایط استریل در محیط سابرودکستروز آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت کشت داده شد. برای حصول اطمینان از سوش مورد نظر، آزمایشات افتراقی نظیر کشت در محیط کورن میل آگار حاوی توئین ۸۰ (سیگما، آلمان) و کشت در سرم انجام گردید.

گروه‌ها و روش تجویز پروبیوتیک: دو نژاد استاندارد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوسATCC4356 و لاکتوباسیلوس کازئی زیر گونه کازئی ATCC29292 از کلکسیون قارچ‌ها وباکتری های صنعتی و بیماریزای ایران خریداری و در محیط MRS-agar شرکت Merck آلمان به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد کشت داده شدند. برای به دست آوردن رقت مناسب تجویز، کلنی‌های رشد کرده را در ۲ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به صورت سوسپانسیون درآورده و سپس یک میکرولیتر آنرا را به لوله بعدی که حاوی ۹۹۹ میکرولیتر PBS بود انتقال دادیم و به این ترتیب سوسپانسیون اصلی را 10^{3} بار رقیق نمودیم. این عمل را دوباره تکرار کرده و رقت 10^{3}را ۱۰۰۰ بار رقیق‌تر نمودیم و سپس ۱۰۰ میکرولیتر آنرا (رقت 10^{6}) را روی محیط آگار ریخته و ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت دادیم. تعداد کلنی‌های رشد کرده ۲۴۰ عدد بود که معادل $2/4\times10^{8}$ باکتری در نظر گرفته شد. روزانه نیم میلی لیتر از این محلول با استفاده از سوزن مخصوص گاواژ به موش‌ها خورانده شد، به جز گروه کنترل که به میزان مساوی PBS دریافت کردند.

در این مطالعه، چهار گروه ۱۰ تایی موش انتخاب شدند. سی روز قبل از تزریق کاندیدا آلبیکنس، به گروه اول لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، به گروه دوم لاکتوباسیلوس کازئی، و به گروه‌های سوم و چهارم به عنوان کنترل PBS تزریق گردید. سه روز بعد از تزریق کاندیدا آلبیکنس به موش‌های گروه اول، دوم و سوم، به موش‌های گروه اول و دوم به مدت ۷ روز پروبیوتیک داده شد و پس از یک روز وقفه دو باره ۷ روز پروبیوتیک به آن‌ها داده شد. گروه‌های سوم و چهارم فقط PBS دریافت نمودند.

عفونی نمودن موش‌ها با کاندیدا آلبیکنس و تهیه لام پاتولوژیک احشای موش‌های آلوده: مخمر کشت داده شده در PBS به صورت سوسپانسیون درآورده شد و پس از دو بار شستشو با PBS توسط لام نئوبار شمارش گردید. سپس رقت مورد نظر تهیه شد و 2×10^{6} سلول در حجم ۲۰۰ میکرولیتر به صورت درون رگی از طریق دم تزریق گردید (۱۵). هفت روز پس از تزریق، دو موش از هر گروه نخاعی شده و احشا آن‌ها (طحال و کلیه) از نظر عفونت کاندیدا آلبیکنس مورد ارزیابی قرار گرفتند. همچنین از هر عضوی یک نمونه در فرمالین ۱۰درصد فیکس گردید و برای تشخیص پاتولوژیک به آزمایشگاه پاتولوژی انستیتو پاستور ایران ارسال شد و وجود مخمر هم در طحال و هم در کلیه مورد تائید قرار گرفت.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 4:41 +0430 on Monday June 18th 2018

تهیه کشت سلول‌های طحال: ۱۴ روز بعد از تزریق کاندیدا آلبیکنس، از هر گروه ۴ موش را نخاعی کرده و تحت شرایط استریل طحال را خارج کرده و از آن سوسپانسیون سلولی تهیه و به مدت ۱۰ دقیقه و دردمای ۴ درجه سانتی‌گراد در دور ۳۰۰×g سانتریفیوژ شد. به رسوب سلولی ۵ میلی لیتر بافر لیزکننده سلول‌های قرمز خون (RBC) اضافه شد و پس از ۵ دقیقه با اضافه نمودن PBS سرد سلول‌ها از شوک لیز خارج و طبق روش قبل سانتریفیوژ شدند. سپس سلول‌ها در محیط RPMI (سیگما، آلمان) شمارش شدند و پس از افزودن سرم جنینی گوساله (سیگما، آلمان)، $۵×۱۰^{۶}$ سلول در میلی لیتر تهیه شد و به هر خانه پلیت ۲۴ خانه‌ای ۲ میلی لیتر از آن که حاوی $۱×۱۰^{۷}$ سلول بود تقسیم گردید و با ۵ میکروگرم در میلی لیتر فیتوهماگلونیتین (PHA) به مدت ۶۰ ساعت تحریک شدند.

بررسی تکثیر سلول‌های ایمنی طحال پس از تحریک باPHA با روش 3-4,5 dimethylthiazol-2,5 diphenyl tetrazolium bromide (MTT): پس از تهیه کشت سلول طحال سوسپانسیونی به میزان یک میلیون سلول در میلی لیتر تهیه شد و در دیش‌های ۹۶ خانه‌ای مسطح ۱۰۰ میکرولیتر در هر چاهک ریخته و سپس ۵ میکروگرم در میلی لیتر PHA اضافه شد و حجم نهایی چاهک‌ها را با محیط RPMI کامل به ۲۰۰ میکرو لیتر رساندیم. دیش‌ها را به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه و در مجاورت با CO_2 کشت دادیم. پس از ۷۲ ساعت، به هر چاهک ۲۵ میکرولیتر ماده MTT اضافه کرده و ۴ ساعت دیگر آنرا کشت دادیم، پس از این مدت به همه چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر ماده دای متیل سولفوکساید (DMSO) (سیگما، آلمان) اضافه شد و جذب آنرا در طول موج ۵۷۰ nm اندازه گرفتیم و اندیکس تحریکی سلول‌های تحریک شده به تحریک نشده محاسبه شد (۱۶).

بررسی میزان IL-12 ,IL-4، IFN-γ، و TGF-β در سوپرناتانت کشت طحال: مایع رویی کشت سلول‌های طحال پس از ۶۰ ساعت جمع آوری شدند و میزان تولید سایتوکاینهای مذکور با روشELISA و با استفاده از کیت سنجش سایتوکاین کمپانی R&D System(Minneapolis, Mn, USA) مورد بررسی قرار گرفتند.

بررسی طول عمر موش‌ها: تعداد ۴ موش از هر گروه را بعد از پایان دوره تجویز پروبیوتیک تا روز مرگ طبیعی در اثر عفونت کاندیدیازیس نگهداری کرده و روزانه مرگ ومیر آن‌ها را ثبت نمودیم.

آنالیز آماری: به منظور کم بودن حجم نمونه، داده‌ها با روش Non-parametric و با آنالیز Mann Whitney با نرم افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ آنالیز گردید. حدود اطمینان ۹۵% و عدد P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

عفونی نمودن موش‌ها: هفت روز پس از تزریق وریدی مخمر، کشت بافت‌های طحال و کلیه از نظر عفونت به کاندیدا مثبت بود (نمودار یک A وB) و لام های پاتولوژیک نیز حضور مخمر را اثبات کردند (C و D).

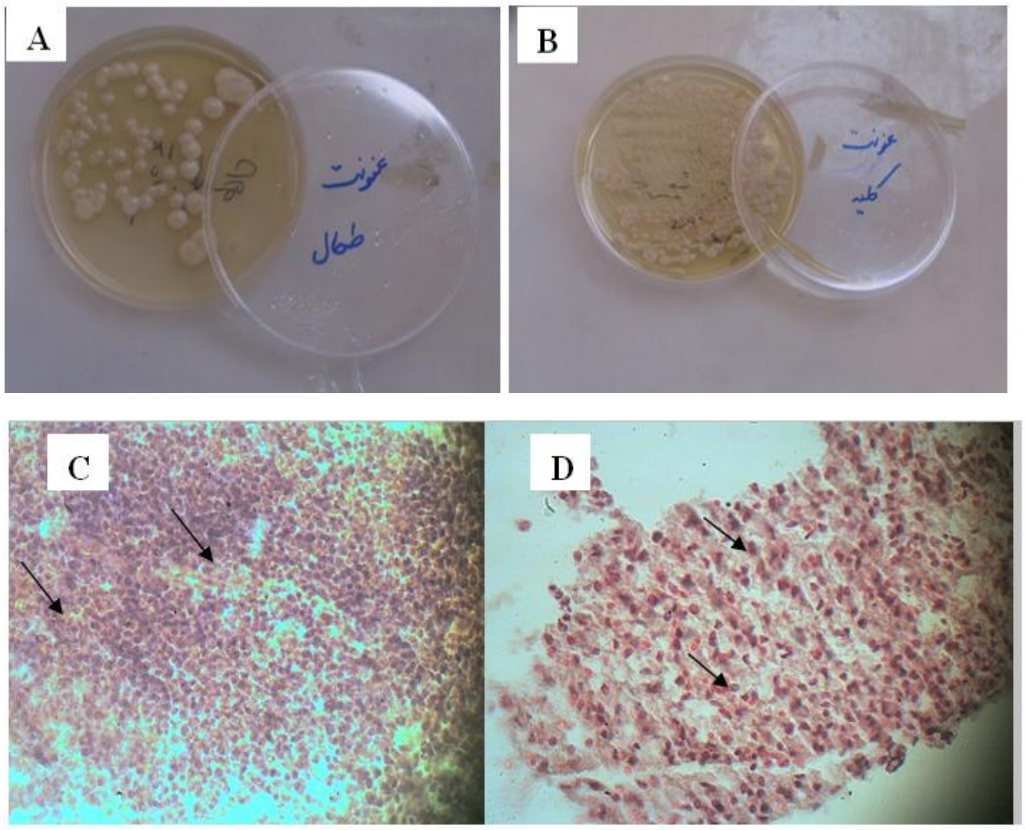
بررسی تکثیر لنفوسیت‌های طحال در حضور PHA: پس از تحریک لنفوسیت‌ها با PHA، تکثیر سلول‌های طحال توسط تست MTT مشخص گردید. همانطور که نمودار ۲ نشان می‌دهد پروبیوتیک‌ها با مقدار به کار رفته و مدت زمان تجویز قادر به افزایش تکثیر در هیچ‌یک از گروه‌های مورد آزمایش نبودند.

بررسی سطح سایتوکاین های IL-4, IL-12 FN-γ, و TGF-β در سوپرناتانت کشت لنفوسیت‌های طحال:

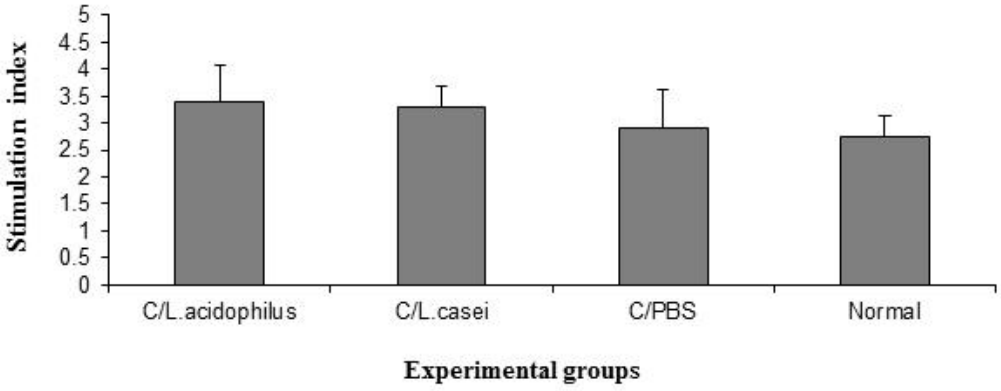
برای تعیین نقش لاکتوباسیل ها در الگوی تولید سایتوکاین ها در موش‌های مبتلا به عفونت سیستمیک کاندیدا آلبیکنس سلول‌های طحال در حضور PHA به مدت ۷۲ ساعت تحریک شده و پس از آن مقدار تولید سایتوکاین های مذکور با تست الایزا سنجیده شد. همانطور که در نمودار ۳A دیده می‌شود، در موش‌های گیرنده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس میزان IL-12 به طور معناداری افزایش نشان می‌دهد. در هر سه گروه موش‌های مبتلا به عفونت کاندیدا میزان IL-4 افزایش داشت ولی این افزایش تنها در گروه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس معنادار بود (نمودار ۳B). در تمامی گروه‌های مبتلا به عفونت کاندیدا با مقایسه با گروه کنترل میزان TGF-β افزایش معناداری نشان داد (نمودار ۳C) و میزان IFN-γ در هیچیک از گروه‌ها اختلاف معنی داری نشان نداد (نمودارD ۳).

بررسی طول عمر موش‌ها: نتایج بررسی طول عمر نشان داد که موش‌های که پروبیوتیک دریافت کرده بودند تفاوت معنی داری از نظر طول عمر نسبت به موش‌های که فقط کاندیدا دریافت نموده بودند نداشتند.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 4:41 +0430 on Monday June 18th 2018

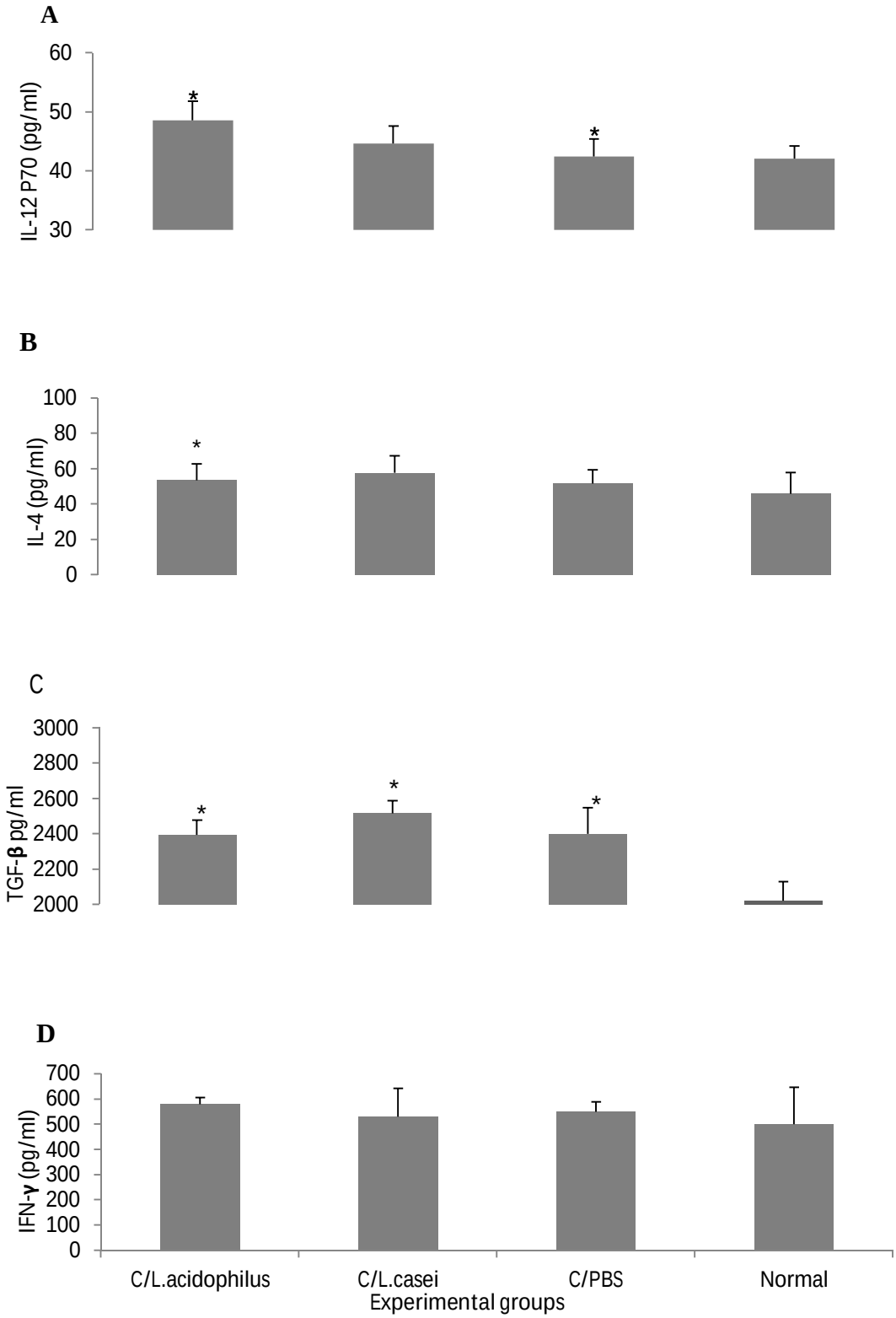


نمودار شماره (۱): بررسی عفونت کاندیدا آلبیکنس در بافت کلیه و طحال موش آلوده. ۲۰۰ مایکرولیتر سوسپانسیون مخمر (۲×۱۰۶ سلول) به ورید دم موش تزریق گردید و ۷ روز پس از تزریق، بافت کلیه و طحال کشت داده شد (A وB). همچنین لام پاتولوژیک برای تائید عفونت کاندیدا آلبیکنس تهیه گردید (C لام کلیه و D لام طحال). فلش وجود کاندیدا را نشان می‌دهد.



نمودار شماره (۲): بررسی تکثیر لنفوسیت‌های طحال پس از تحریک با PHA. سلول‌های طحال را در دیش ۹۶ خانه‌ای مسطح با ۵ میکروگرم در میلی لیتر PHA تحریک نموده و پس از ۷۲ ساعت کشت در دمای ۳۷ درجه، میزان تکثیر سلولی با روش MTT در طول موج 570 nm اندازه گرفته شد (C معرف عفونت کاندیدا می‌باشد). در این آزمایش میزان تکثیر سلولی در گروه‌های مختلف تفاوت معنی داری با هم نداشتند.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 4:41 +0430 on Monday June 18th 2018



نمودار شماره (۳): بررسی میزان سایتوکاین های IL-4, IL-12 FN-γ, و TGF-β در سوپرناتانت کشت لنفوسیت‌های طحال موش BALB/c. سلول‌های طحال با ۵ میکروگرم در میلی لیتر PHA تحریک شدند و پس از ۷۲ ساعت کشت در دمای ۳۷ درجه، میزان سایتوکاین های مذکور با ELISA اندازه گیری شد. * افزایش معنی دار میزان IL-12، IL-4 و TGF-β را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 4:41 +0430 on Monday June 18th 2018

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه یافته‌ها نشان می‌دهند که از میان دو سوش لاکتوباسیلوس، تجویز خوراکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس می‌تواند موجب تحریک ترشح IL-12 در لنفوسیت‌های طحال موش‌های مبتلا به عفونت سیستمیک کاندیدا آلبیکنس گردد. IL-12 از جمله سایتوکاینهایی است که بیشتر توسط سلول‌های عرضه کننده آنتیژن مانند ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک ترشح می‌شود و یکی از عوامل دخیل در تقویت پاسخ ایمنی سلولی می‌باشد که نقش عمده‌ای در تمایز سلول‌های لنفوسیتی Th0 به سمت Th1 ایفا می‌کند (۱۷). از طرفی IL-12 می‌تواند به فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی (سلول‌های NK) نیز کمک کند و در واقع به عنوان یک عامل تحریک کننده برای این سلول‌ها مطرح باشد (۱۸). از آنجا که سلول‌های کشنده طبیعی اولین خط دفاعی بدن در مقابله با عفونت و تومور می‌باشند لذا تقویت آن‌ها می‌تواند منجر به پیش آگهی بهتر در بیماران گردد. برخی مطالعات انجام شده روی لاکتوباسیلوس ها به خصوص یک سوش خاص از لاکتوباسیلوس کازئی شیروتا نیز نشان دهنده افزایش میزان IL-12 در تجویز این گونه از پروبیوتیک در مدل موشی و به تبع آن تقویت عملکرد سلول‌های کشنده طبیعی می‌باشد (۱۹). با توجه به اختصاصی بودن الگوی القای سایتوکاینی توسط لاکتوباسیلوس ها می‌توانیم لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تجویز شده در این مطالعه را نیز به عنوان یک تحریک کننده تولید سایتوکاینIL-12 معرفی کنیم.

IFN-γ توسط سلول‌های کشنده طبیعی، سلول‌های Th1 و دندریتیک ترشح می‌شوند و دارای خواص تنظیم کننده ایمنی، ضد ویروسی و ضد توموری می‌باشد. در مورد عملکرد این سایتوکاین می‌توان گفت که در واقع IFN-γ مهم‌ترین سایتوکاین مربوط به سلول‌های Th1 است که موجب تقویت عملکرد عرضه توسط ماکروفاژها و همچنین مانند IL-12 موجب تقویت عملکرد سلول‌های کشنده طبیعی می‌شوند (۲۰). IFN-γ در سرکوب فعالیت سلول‌های Th2 و افزایش بیان مارکرهای سطحی اتصال برای مهاجرت لنفوسیت‌ها نیز نقش دارد. IL-4 سایتوکاین تنظیمی است و با فعالسازی لنفوسیت‌های Th2 ارتباط داشته و نقش مهمی در کنترل رشد و تعدیل پاسخ ایمنی بازی می‌کند. این سایتوکاین عملکرد آنتاگونیستی نسبت به IFN-γ دارد و به نظر می‌رسد دارای خصوصیت ضد التهابی باشد. نتایج ما در اندازه گیری IFN-γ افزایش معناداری را در هیچیک از گروه‌های مورد آزمایش نشان نداد و در مورد IL-4 افزایش معناداری را در گروه موش‌های عفونی دریافت کننده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مشاهده کردیم که دلیلی دیگر بر ناتوان بودن پروبیوتیک‌ها در شرایط حاد می‌باشد.

در این مطالعه میزان TGF-β نیز که از جمله سایتوکاین های مربوط به Th2 است در گروه گیرنده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی نسبت به گروه کنترل در موش‌های مبتلا به عفونت افزایش داشت که با توجه به نقش این سایتوکاین در سرکوب سیستم ایمنی و القا تولرانس یا تحمل ایمونولوژیک می‌توان به بدتر شدن پیش آگهی در موش‌های مبتلا به عفونت اشاره کرد.

با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق، مطالعات متعدد دیگری نشاندهنده نقش حفاظتی پروبیوتیک‌ها در کاهش رشد کاندیدا آلبوکنس می‌باشد. این تضاد به دلیل محدودیت‌های است که در این مطالعه با آن مواجه شدیم. کاندیدیازیس یک بیماری بسیار خطرناک می‌باشد که به داروهای موجود مقاومت نشان می‌دهد و اخیرا کاربرد پروبیوتیک‌ها امیدوار کننده هستند. در مطالعه اخیر، برای ایجاد عفونت سیستمیک نیاز به تزریق زیاد کاندیدا بود که حیوان نمی‌تواند بیش از دو هفته زنده بماند. در نتیجه ما نمی‌توانیم اثر بخشی پروبیوتیک‌ها را با دوز خوراکی در کوتاه مدت ببینیم و امکان زنده ماندن موش‌ها نیز تحت این شرایط امکان پذیر نمی‌باشد. مطالعات دیگر یا در in vitro صورت گرفته ویا اینکه عفونت از راه خوراکی بوده که عفونت سیستمیک بر خلاف مطالعه ما ایجاد نشده. این مطالعات نشاندادند که تجویز خوراکی لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس به موش حاوی تومور پستان باعث افزایش IL-12 و کاهش TGF-β در کشت طحال می‌شود و در نتیجه اندازه تومور کاهش میابد (۲۱). همچنین، پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس و رامنوسوس (rhamnosus) استقرار کاندیدا آلبوکنس را در موکوس دهانی موش ایمونوساپرس DBA/2 کاهش می‌دهند (۲۲) و هشت نژاد لاکتوباسیلوس تجاری از رشد کاندیدا آلبیکنس جلوگیری کرده و مانع رشد موتان استرپتوکوکسی دهانی می‌شوند (۲۳). پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس روتری (reuteri RC-14) و رامنوسوس (rhamnosus GR-1) به عنوان ادجوانت در درمان زنان آلوده به کاندیدای دستگاه تناسلی بکار می‌روند و مطالعه اخیر in vitro نشان می‌دهد که ایندو پروبیوتیک به تنهایی یا ترکیبی باعث کاهش آلودگی کاندیدا آلبوکنس لاین سلولی اپیتلیال دستگاه تناسلی زنان (VK2/E6E7) می‌شوند. این کاهش رشد به دلیل افزایش ترشح IL-8 و IP-10 توسط لاین سلولی می‌باشد (۲۴).

مطالعه اخیر دیگر نشان می‌دهد که افزودن لاکتو باسیلوس کازئی(CRL 431) به رژیم غذائی موش باعث مقاومت آن‌ها در

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 4:41 +0430 on Monday June 18th 2018

برابر عفونت کاندیدا آلبوکنس می‌شود (۲۵). موش‌های که تغذیه نامناسب داشتند وقتی به غذای آن‌ها پروبیوتیک اضافه شود طول عمر و مقاومت آن‌ها علیه عفونت کاندیدا، که از طریق صفاق صورت گرفته بود، با مقایسه با گروه تغذیه نامناسب و یا مناسب افزایش پیدا می‌کند و میزان TNF-α, IFN-γ و IL-6 نیز در خون آن‌ها افزایش می‌یابد که نشان می‌دهد لاکتوباسیلوس کازئی باعث تقویت سیستم ایمنی می‌گردد (۲۵).

اثر محافظت بخشی پروبیوتیک‌ها نه تنها به دلیل افزایش سایتوکاین است بلکه به دلیل ترشح بعضی از فاکتورهای مفید مانند فنیل اتانل، اسید کاپروئیک، اسید کاپریلیک و اسید کاپریک می‌باشد (۲۶). اخیرا گزارش شده که پروبیوتیک ساکارومیسس بولاردی (boulardii) با ترشح اسید کاپریک فاکتور ویرولانس کاندیدا آلبوکنس را کاهش می‌دهد، از رشد قارچ جلوگیری می‌کند، مانع تشکیل هایفه شده و چسبندگی کاندیدا و تشکیل بیوفیلم را کاهش می‌دهد (۲۶).

گر چه پروبیوتیک‌ها به عنوان یک عامل پیشگیری کننده در بسیاری از بیماری‌ها نقش دارند اما از قدرت کافی برای مقابله با شرایط حاد و سختی چون عفونت سیستمیک کاندیدیازیس برخوردار نیستند و بهتر است از آن‌ها به عنوان یک عامل پیشگیری کننده استفاده شود تا عامل درمانی. بررسی اثر دو پروبیوتیک بر میزان تکثیر سلول‌های ایمنی در طحال موش‌های گیرنده پروبیوتیک‌های مذکور هیچگونه افزایشی را نشان نداد. همچنین، این دو پروبیوتیک تاثیری در افزایش طول عمر موش‌های آلوده به کاندیدا آلبیکنس را نیز نداشتند که به دلیل عفونت سیستمیک و عدم فرصت مناسب برای اثر بخشی پروبیوتیک‌ها می‌باشد.

References:

1. Odds F.C. Ecology and epidemiology of Candida. 1979, Baltimore: University Park Press.
2. Epstein J.B, Truelove K, Izutzu L. Oral candidiasis: pathogenesis and host defense. Rev. Infect Dis 1984; 6: 96-106.
3. Meunier-Carpentier F, Kiehn TE, Armstrong D. Fungemia in the immunocompromised host. Am. J. Med 1981; 71: 363-370.
4. Pagano L, Mele L, Fianchi L, Melillo L, Martino B, D'Antonio D, et al. Chronic disseminated candidiasis in patients with hematologic malignancies. Clinical features and outcome of 29 episodes. Haematologica 2002; 87(5): 535-41.
5. Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in the United States hospitals: three years analysis. Clinical Infectious Disease 1999; 29: 239-244.
6. Berg R, Bernasconi P, Fowler D, Gautreaux M. Inhibition of Candida albicans translocation from the gastrointestinal tract of mice by oral administration of Saccharomyces boulardii. J Infect Dis 1993; 168: 1314–1318.
7. De Petrino SF, Maria E, De Jorrat, Meson O, Perdign G. Protective ability of certain lactic acid bacteria against an infection with Candida albicans in a mouse immunosuppression model by corticoid. Food Agric Immunol 1995; 7: 365–373.
8. Hilton E, Isenberg HD, Alperstein P, France K, Borenstein MT. Ingestion of yogurt containing Lactobacillus acidophilus as prophylaxis for candidal vaginitis. Ann Intern Med 1992; 116: 353-357.
9. Satonaka K, Ohashi K, Nohmi T, Yamamoto T, Abe S, Uchida K et al. Prophylactic effect of Enterococcus faecalis FK-23 preparation on experimental candidiasis in mice. Microbiol Immunol 1996; 40: 217–222.
10. Drisko JA, Giles CK, Bischoff BJ. Probiotics in Health Maintenance and Disease Prevention. Alternative Medicine Review 2003; 8: 144-157.
11. FAO/WHO Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Cordoba Argentinia 2001; 19-20.
12. Perdigón G, Fuller R, Raya R. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. Curr Issues Intest Microbiol 2001; 2(1): 27-42.
13. Wagner RD, Pierson C, Warner T, Dohnalek M, Farmer J, Roberts L et al. Biotherapeutic effects

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 4:41 +0430 on Monday June 18th 2018

of probiotic bacteria on candidiasis in immunodeficient mice. Infect Immun 1997; 65(10): 4165-72.

14. Wagner RD, Warner T, Pierson C, Roberts L, Farmer J, Dohnalek M et al. Biotherapeutic effects of Bifidobacterium spp. on orogastric and systemic candidiasis in immunodeficient mice. Rev Iberoam Micol 1998; 15(4): 265-70.
15. Elahi S, Pang G, Ashman R, Clancy R. Enhanced clearance of Candida albicans from the oral cavities of mice following oral administration of Lactobacillus acidophilus. Clin Exp Immunol 2005; 141(1): 29-36.
16. Kirjavainen PV, El-Nezami HS, Salminen SJ, Ahokas JT, Wright PF. The effect of orally administered viable probiotic and dairy lactobacilli on mouse lymphocyte proliferation. FEMS Immunol Med Microbiol 1999; 26(2): 131-5.
17. Trinchieri, G. Interleukin-12: a cytokine produced by antigen-presenting cells with immunoregulatory functions in the generation of T-helper cells type 1 and cytotoxic lymphocytes. Blood 1994; 84(12): 4008-27.
18. Shida K, Suzuki T, Kiyoshima-Shibata J, Shimada S, Nanno M. Essential roles of monocytes in stimulating human peripheral blood mononuclear cells with Lactobacillus casei to produce cytokines and augment natural killer cell activity. Clin Vaccine Immunol 2006; 13(9): 997-1003.
19. Takeda K, Suzuki T, Shimada SI, Shida K, Nanno M, Okumura K. Interleukin-12 is involved in the enhancement of human natural killer cell activity by Lactobacillus casei Shirota. Clin Exp Immunol 2006; 146(1): 109-15.
20. Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, Cousens LP, Salazar-Mather TP. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. Annu Rev Immunol 1999; 17: 189-220.
21. Yazdi MH, Soltan Dallal MM, Hassan ZM, Holakuyee M, Agha Amiri S, Abolhassani M et al. Oral administration of Lactobacillus acidophilus induces IL-12 production in spleen cell culture of BALB/c mice bearing transplanted breast tumour. Br J Nutr 2010; 104(2): 227-32.
22. Matsubara V, Silva E, Paula C, Ishikawa K, Nakamae A. Treatment with probiotics in experimental oral colonization by Candida albicans in murine model (DBA/2). Oral Dis. 2011 Oct 11. doi: 10.1111/j.1601-0825.2011.01868.x. (Epub ahead of print)
23. Hasslöf P, Hedberg M, Twetman S, Stecksén-Blicks C. Growth inhibition of oral mutans streptococci and candida by commercial probiotic lactobacilli-an in vitro study. BMC Oral Health. 2010;10: 18.
24. Martinez RC, Seney SL, Summers KL, Nomizo A, De Martinis EC, Reid G. Effect of Lactobacillus rhamnosus GR-1 and Lactobacillus reuteri RC-14 on the ability of Candida albicans to infect cells and induce inflammation. Microbiol Immunol. 2009;53(9): 487-95.
25. Villena J, Salva S, Agüero G, Alvarez S. Immunomodulatory and protective effect of probiotic Lactobacillus casei against Candida albicans infection in malnourished mice. Microbiol Immunol. 2011 55(6): 434-45.
26. Murzyn A, Krasowska A, Stefanowicz P, Dziadkowiec D, Łukaszewicz M. Capric acid secreted by S. boulardii inhibits C. albicans filamentous growth, adhesion and biofilm formation. PLoS One. 2010; 5(8): e12050.