

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^۴, امیر تکمه چی^۵, رحیم حب نقی^۶, سمیه نادری^۷

تاریخ دریافت ۹۰/۰۱/۲۴ تاریخ پذیرش ۹۰/۰۱/۰۹

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 (۶-۴ هفت‌ماه، وزن ۲۰-۱۸ 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 درون معده و به فرم سوسپانسیون دریافت کرده و بعد از توموری شدن هم با وقفه‌های سه روزه بعد از دوره هفت روزه نقاوت، 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 بیانگرافیاژ کارآمدی سیستم ایمنی این موش‌ها در برابر تومور می‌باشد. نتایج هیستوپاتولوژی افزایش معنی‌دار نکروز داخل توموری در لایه‌های 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 احتمالاً این پروبیوتیک می‌تواند به عنوان یک عامل حمایت کننده در درمان سرطان مطرح شود.

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

مجله پژوهشی ارومیه، دوره بیست و دوم، شماره سوم، ص ۲۳۰-۲۲۸، مرداد و شهریور ۱۳۹۰

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

Email: info@fgpakdel.com

مقدمه

پیشگیری و تکمیل درمان جان خود را از دست می‌دهند. بیش از ۲۱۰۰۰ 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

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

^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

^۴ دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

^۵ استادیار میکرولوژی، مرکز تحقیقات علوم سلولی - مولکولی دانشگاه ارومیه

^۶ استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

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

سیستم ایمنی بر جا می‌گذارند (۱۶-۱۴). در مطالعات مختلف روی مدل‌های حیوانی و نیز موارد انسانی به همراه مطالعات باکتری‌شناسی، این موضوع به اثبات رسیده است که باکتری‌های لاكتیک اسید^۱ 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 لاكتوباسیلوس^۲ بیشترین میکرووارگانیسم‌هایی 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 لاكتوباسیلوس‌ها باعث افزایش مقاومت بدن در برابر عفونت‌ها و سرطان‌ها می‌باشند. مصرف این باکتری‌ها موجب افزایش عملکرد ماکروفازها و ترشح مواد متعدد از جمله ایمنوگلوبولین‌ها می‌شود (۱۵). اگرچه باکتری جنس لاكتوباسیلوس 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. لاكتوباسیلوس رامنوسوس^۳ یکی ایکی از این گونه‌ها است که دارای سویه‌های مختلفی با پیشگی‌های سلولی متفاوتی است. از نظر وابستگی ژنی، این باکتری به گونه لاكتوباسیلوس کازبی^۴ وابسته بوده و سویه‌های آن دارای قدرت تحریم ناهمگونی هستند. به جز برخی سویه‌ها، اغلب آن‌ها بیماری‌زا نیستند. سویه‌های ATCC7469^T (هم نام DSM20021^T) با LMG6400^T (ماشهورترین آن‌ها هستند (۱۸). با توجه به توانایی دانشمندان در تغییر ژنی باکتری‌ها و نیز ایجاد سویه‌های جدید با توانایی تولید برخی مواد محرك سیستم ایمنی، به نظر می‌رسد تحقیقات در این خصوص می‌تواند بسیار وسیع و متنوع باشد. از آنجایی که برخی سویه‌های لاكتوباسیلوس 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 لاكتوباسیلوس رامنوسوس با نام LMG18243 در روی سلول‌های سرطان پستان ایجاد شده در مدل موش Balb/C می‌باشد.

مواد و روش کارها

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

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 اویلین 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 در گیر، 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 سیتوولیتیک، 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 (۱۰-۱۲).

استفاده مرسوم از مواد پروبیوتیک 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 آن را برای مبارزه با سرطان تقویت نمایند. پروبیوتیک‌ها دسته‌ای از میکرووارگانیسم‌های زنده غیر بیماری‌زا هستند که در صورت مصرف به میزان مشخص، اثرات مفیدی در

¹ Lactic Acid Bacteria (LAB)

² Lactobacillus

³ Lactobacillus rhamnosus

⁴ Lactobacillus casei

برداشت تومور بود مورد بازبینی قرار می‌گرفت. پس از تایید سلطانی 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 عموماً به قطعات پنج میلی متر مکعبی تقسیم می‌شد. حیوانات دریافت کننده تومور با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (Ketanest, Parke-Davies, Freiburg, Germany) و زایلازین (Bayer, Leverkusen, Germany) (10, 3 mg/Kg) تحت بیهوش شده و پس از بیهوشی کامل قطعات آماده شده تومور شرایط استریل در زیر پوست ناحیه فلاتک 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 با Delayed-(DTH) Type Hypersensitivity: بررسی ازدیاد حساسیت تاخیری (T-helper) برای تعیین بالانس فعالیت لنفوцит‌های T کمکی (Th1) و Th2 روش مرسومی است. اینمی مربوط به Th1 اینمی سلولی² بوده و در پاسخ اینمی علیه بیماری‌های ویروسی و نیز حذف سلول‌های سلطانی نقش داشته ولی اینمی مربوط به Th2 مسئول اینمی هومورال³ 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 زن اختصاصی تومور (تهیه شده از تومور اصلی) و به همان مقدار PBS به کف پای راست تزریق کرده و میزان التهاب ناحیه تزریق را ۴۸، ۲۴ و ۷۲ 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.

$$\frac{\text{نطر پای راست} - \text{نطر پای چپ}}{\text{نطر پای راست}} \times 100$$

خریداری و در شرایط مناسب (دوره روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعت، شروع روشنایی ساعت ۸ صبح، تغذیه حیوانات با پلت‌های استاندارد بوده، دمای محل نگهداری شدن تا با شرایط درصد بوده است) به مدت یک هفته نگهداری شدن 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 نظرات 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 باافر فسفات استریل (PBS) جمع آوری شده و با استفاده از روش رقت سازی متوالی میزان $3 \times 10^8 \text{ cfu}^1$ از باکتری تهیه و روزانه از این سوسپانسیون به روش داخل معده و به کمک سرنگ گاواز به هر موش خورانده می‌شد. در موش‌های گروه کنترل مقدار مساوی PBS به حیوانات تجویز می‌شد. گاواز باکتری یک هفته قبل از توموری شدن موش‌ها و بعد از پیوند نیز پس از وقفه هفت روزه دوره نقاوت، 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^{-3}) 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 $30 \text{ cfu}/\text{ml}$ بود که برابر محاسبات انجام شده این رقت از کشت اولیه حاوی $3 \times 10^8 \text{ cfu/ml}$ بود.

نحوه القا تومور در حیوانات: در این تحقیق از پیوند بافت توموری برای القاء سلطان پستان استفاده شد. برای این منظور موشی که دچار تومور خودبخودی می‌شد و مدل مناسبی برای

² Cellular Immunity
³ humoral Immunity

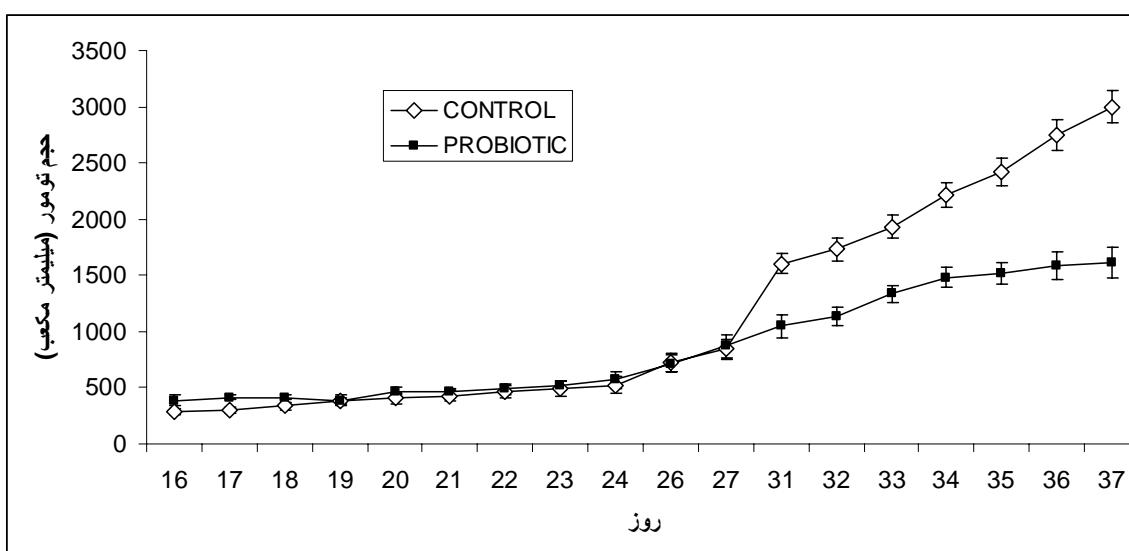
¹ Colony Forming Unit

نتایج سیر رشد و حجم نهایی تومور: حجم نهایی تومور در موشاهی 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 و ۲ میزان حجم نهایی و نیز رشد تومور مقایسه شده است. حجم نهایی تومور در گروه کنترل ($2997/9 \pm 140$ میلی متر مکعب) در مقایسه با حجم نهایی آن در گروه پروبیوتیک ($1613/3 \pm 132$ میلی متر مکعب) با آن در گروه پروبیوتیک ($1613/3 \pm 132$ میلی متر مکعب) با $p < 0.001$ اختلاف معنی داری داشته است.

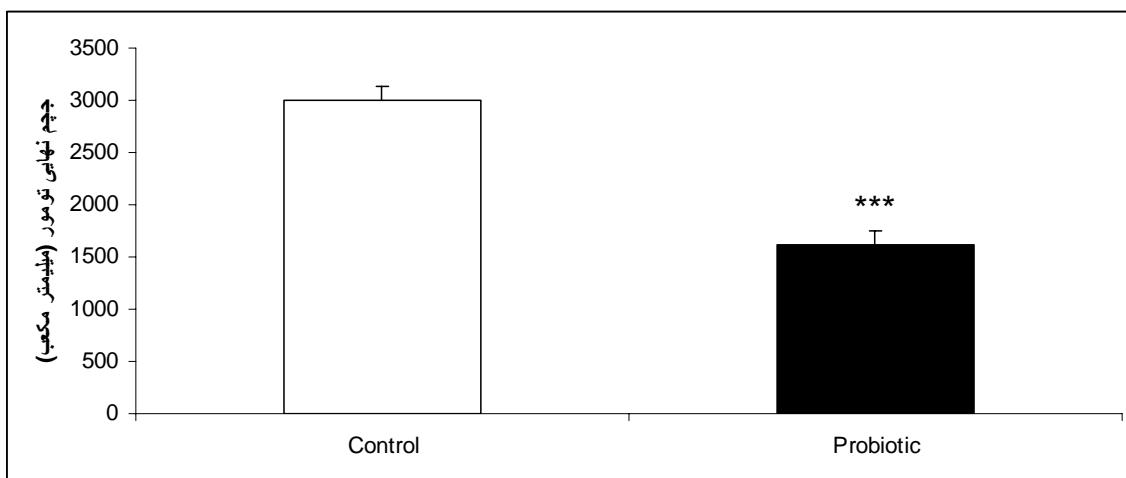
بررسی های پاتولوژیک: بدین منظور بعد از کشتن موشاهی هر گروه در پایان روز ۳۶ قطعات پنج میلی متر مربعی از بافت تومور تهیه و در بافر فسفات فرمالین ۱۰ درصد جهت انجام مطالعات پاتولوژیکی حفظ گردید.

آنالیز آماری: برای آزمون آماری پارامترهای مورد نظر در بین گروه ها از آنالیز آماری ANOVA یک طرفه و تست توکی استفاده شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار آماری GB-Stat ver 5.0 استفاده شده و سطح معنی داری معادل 0.05 و 0.01 بر حسب مقایسه در نظر گرفته شد.

یافته ها



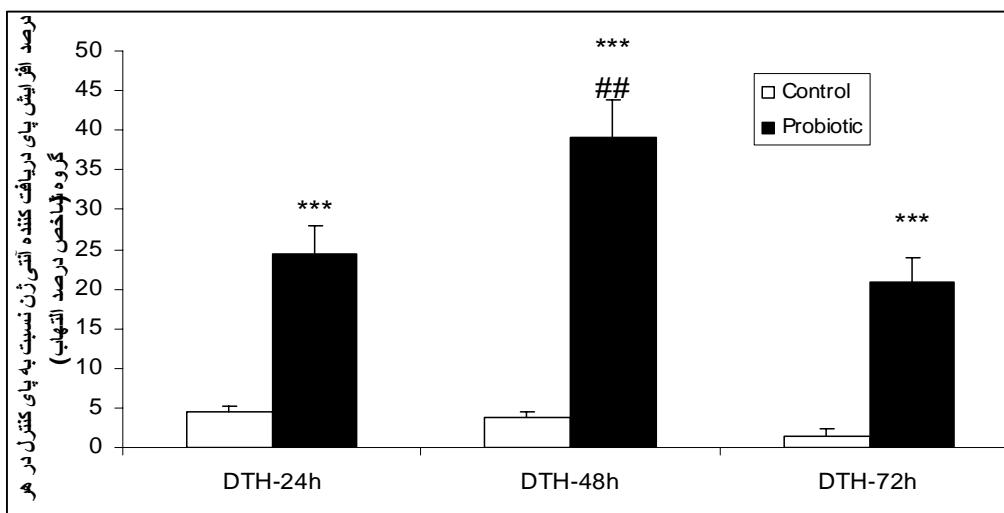
نمودار شماره (۱): منحنی سیر رشد تومور در دو گروه کنترل و گروه دریافت کننده پروبیوتیک



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

دریافت کننده باکتری، ۴۸ ساعت پس از تزریق اختلاف قابل توجهی نسبت به گروه کنترل وجود دارد ($p < 0.05$). در نمودار ۳ این مقادیر نشان داده شده‌اند.

نتایج بررسی DTH: طبق نتایج بدست آمده التهاب در گروه دریافت کننده باکتری مشهود بود که حداقل 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



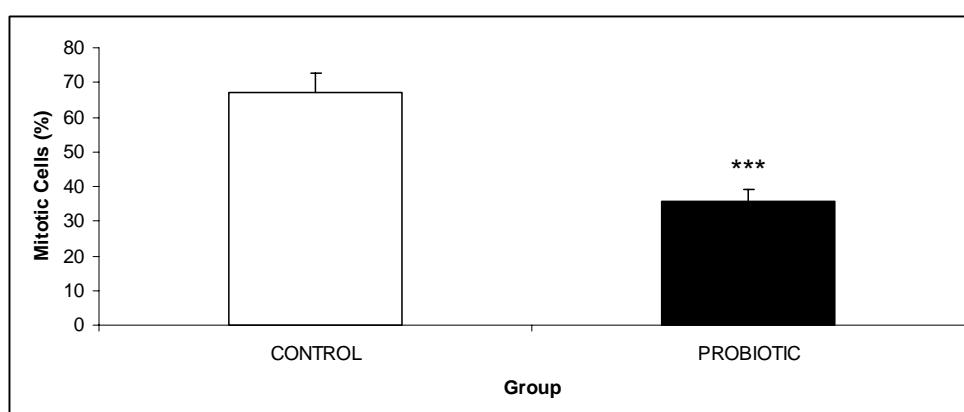
نمودار شماره (۳): منحنی درصد افزایش حجم پای تحت تزریق آنتی زن (شاخص درصد التهاب) در گروه دریافت کننده پروبیوتیک تست DTH در سه روز متوالی

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

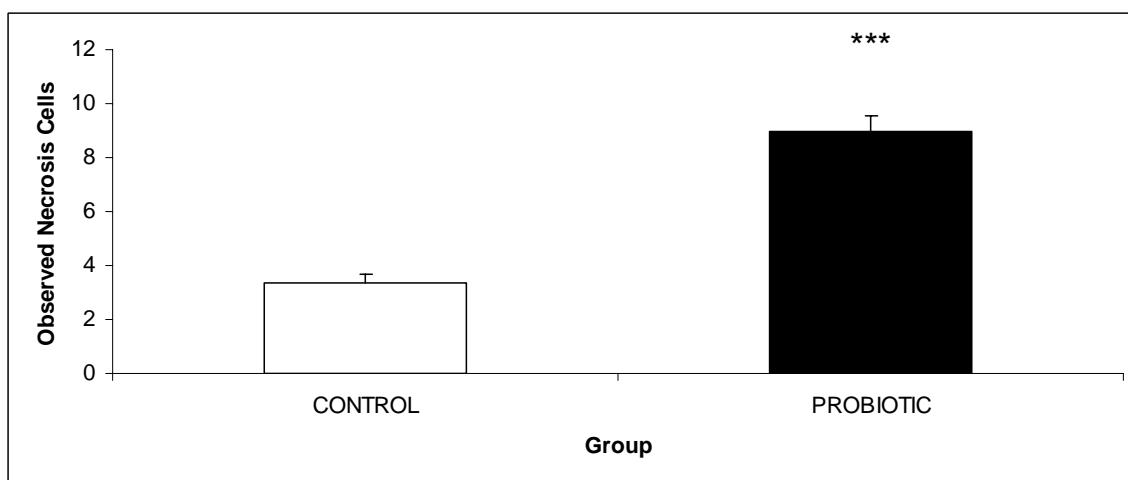
$p < 0.01$ ## تفاوت آماری نسبت به داده‌های قبلی در همان گروه

پروبیوتیک در مقایسه با گروه کنترل بوده است. همچنین ارتضاح 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.

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 معنی دار ($p < 0.001$) میزان نکروز داخل تومور در اثر تقویت پاسخ‌های ضد توموری در موش‌های گروه گیرنده

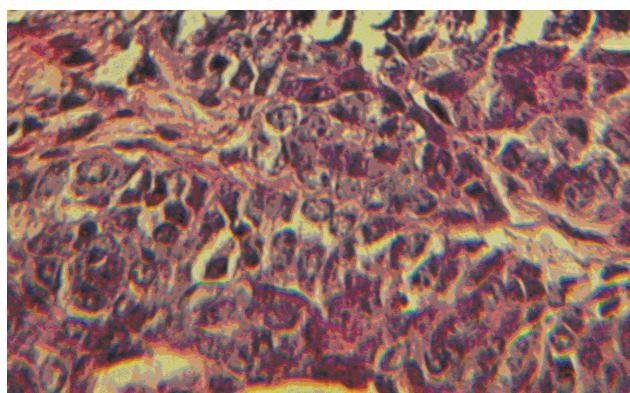


نمودار شماره (۴): نمودار میزان اشکال فعال میتوزی در دو گروه کنترل و دریافت کننده پروبیوتیک
 $p < 0.001$ *** تفاوت آماری نسبت به گروه کنترل

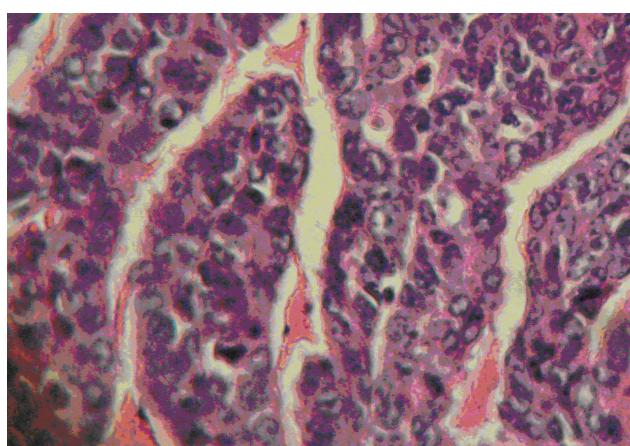


نمودار شماره (۵): نمودار میزان نکروز بافتی در دو گروه کنترل و دریافت کننده لاكتوباسیلوس رامنووس
در میدان‌های میکروسکوپی مشاهده شده

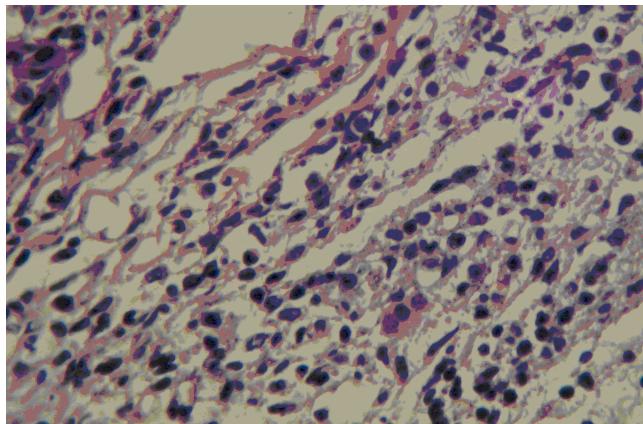
*** تفاوت آماری نسبت به گروه کنترل $p<0.001$



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 $400\times$)



شکل شماره (۳): ارتضاح لنفوسيتي در اطراف توده سرطاني در گروه دريافت کننده پروبويotic (بزرگنمایی $\times 400$)

مطالعات کلينيکي نشان داده‌اند که از لاكتوباسيل‌هاي غيربيماري زا می‌توان در افزايش توان سيسitem ايمني، تقويت عاليم سلولی سلول‌های T-helper در مسير ضد آرزي، ضد تومور و افزايش قدرت سيسitem ايمني در مقابله با ميكرووارگانيسهم‌هاي بيماري زا استفاده نمود. احتمالاً فرآيند مذكور در برگيرنده سيتوكاين‌هاي فعال کننده سلول‌های T-Helper (Th) اوليه IL-12, INF α /INF γ هستند. از جمله اين سيتوكاين‌ها می‌توان به IL-12 و IL-18 اشاره نمود. استفاده از باكتري باسيلوس رامنوسوس HNOOI در مدل‌هاي حيواني نشان داده است که اين باكتري می‌تواند يك عامل محرك سيسitem ايمني بوده و پاسخ‌هاي ايمني مربوط به T-Helper را در جهت تقويت سيسitem ايمني پيش مى‌برد (۲۷-۲۹). در برخی مطالعات نيز گزارش شده است که باسيلوس رامنوسوس به تنهائي يا با ترکيب با ساير باكتري‌ها يا عوامل پروبويoticي قادر است اثرات ضد توليد سرطان داشته و ضمن تقويت سيسitem ايمني در مبارزه با تومور قادر است در استفاده مداوم باعث عدم توليد سلول‌های توموري مي‌گردد (۳۰). بر طبق نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر و با توجه به نوع پاسخ موردنرياز بدن در مقابله با تومور که در واقع پاسخ‌هاي مربوط به لنفوسيت‌هاي Th1، سلول‌های T سايتو توکسيك و ديگر مكانيسم‌هاي سايتوليز سلول‌های توموري از جمله فعاليت سلول‌های NK مي‌باشد، می‌توان اين نتیجه را از پروبويotic بر کار آمدی بيشتر پاسخ‌هاي ايمني و وضعیت دفاعي بدن در مقابل تومور دانست. افزايش ميزان التهاب موضعی در تست DTH در موش‌هاي گيرنده پروبويotic می‌تواند نشان دهنده فعاليت بيشتر سلول‌های Th1 در موش‌ها باشد. در اين تست در واقع بدن در مقابل آنتي ژني قرار مي‌گيرد که قبلًا با آن در تماس بوده است و اين در واقع يك پاسخ ثانويه ناشي از عملکرد سلول‌های Th1

بحث

در بسياري کشورها گروه بيماري‌هاي قلبی عروقی و سرطان به عنوان دو عامل مهم مرگ و مير تلقی می‌شود. سالانه حدود ۷ ميليون نفر در جهان در اثر ابتلا به سرطان جان خود را از دست می‌دهند و برآورد می‌شود تا سال ۲۰۲۰ شمار موارد جديد ابتلا به سرطان در هر سال از ۱۰ ميليون نفر به ۱۵ ميليون نفر افزايش يابد. در ساليان اخير توجه دانشمندان به منابع غذائي پيشگيري کننده بيشتر شده و بحث پروبويoticها، پره بيوتيكها و سيمبيوتيكها از اهميت فراوانی در درمان‌هاي غذائي سرطان پيدا كرده است. پروبويoticها از طريق کاهش غلظت مدفوعي آنزيم‌ها و نمک‌هاي صفراوي و کاهش جذب موتاژن‌هاي مضر که عامل سرطان کولون هستند، نقش موثری در پيشگيري از بيماري‌ها بازی می‌کنند. به طور طبیعی روده از طريق آنزيم‌هاي Azoreductase، Glycosidase، β -glucuronidase، Nitroreductase می‌كند (۲۱-۲۳). پروبويoticها به خصوص Lactobacillus سبب کاهش فعاليت اين آنزيم‌ها می‌شوند. Bifidobacterium infantis با تحریک سيسitem ايمني ميزبان توانايی سركوب تومورها را دارد. در مدل‌هاي حيواني Bifidobacterium توليد ضدموتاژن در کولون توسط longum مشاهده شده است. پروبويoticها از طريق افزايش Aيمونوگلوبين ترشحی و توليد سيتوكين ها سبب تحریک سيسitem ايمني نيز می‌شوند. اين ترکيبات همچنین از طريق افزايش فاگوسیتوز پاتوژن‌ها، سيسitem ايمني غيراختصاصي را تحریک يا تقويت می‌کنند. از مزاياي پروبويoticها در تحریک سيسitem ايمني، عدم ايجاد التهاب مي‌باشد (۲۴-۲۶).

می تواند 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 می توان به نتایج رضایت بخش از انجام مطالعات انسانی با استفاده از این پرپویوتیک در تقویت سیستم ایمنی مبتلایان به این نوع سرطان امید وار بود و لیکن هنوز نیاز به مطالعات بیشتر برای شناخت دیگر مکانیسم‌ها و اثرات دقیق‌تر پرپویوتیک‌ها بر پاسخ‌های ایمنی در مقابله با تومور وجود دارد.

خطرهای می‌باشد که این التهاب کمی پس از تماس دوباره با آنتی زن آغاز شده و بعد از ۴۸ ساعت از تماس به حداقل التهاب خود رسیده و در ۷۲ ساعت التهاب فروکش می‌کند (۱۵). و این موضوع دلالت بر تقویت پاسخ سیستم ایمنی سلولی وابسطه به لنفوسيت‌های Th1 می‌باشد. همچنین داده‌ها و نتایج حاصل از حجم نهایی تومور و کاهش سیر رشد تومور در گروه دریافت کننده باکتری لاکتوپاسیلوس رامنوسوس نسبت به گروه کنترل

References:

- 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.
- Stewart BW, Kleihues P. Breast cancer. World Cancer Report. Lyon: IARC Press: World Health Organization; 2003. P.188-93.
- Ruddon RW. The epidemiology of human cancer. In: Ruddon RW, Editor. Cancer biology. 4th Ed. Oxford: Oxford University Press, Inc.; 2007. P.62-116.
- 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.
- Sadjadi A, Nouraei 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.
- 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.
- 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.
- Benson J, Jatoi I. Management options in breast cancer-case histories, best practice, and clinical decision-making. London: Informa Healthcare USA, Inc.; 2009.
- 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.
- 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.
- Rayter Zenon MJ. Medical therapy of breast cancer. New York: Cambridge University Press; 2003.
- 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.
- Saikali J, Picard C, Freitas M, Holt P. Fermented milks, probiotic cultures, and colon cancer. Nutr Cancer 2004; 49(1):14-24.
- Hirayama K, Rafter J. The role of probiotic bacteria in cancer prevention. Microbes Infect 2000; 2(6):681-6.
- Gill H, Grover S, Batish V, Gill P. Immunological Effects of Probiotics and their Significance to Human Health. In: Charalampopoulos D, Rastall

- 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.