Archive of SID

مجله علمی سازمان نظام پزشکی جمهوری اسلامی ایران، دوره۲۷، شماره ۱، بهار ۱۳۸۸: ۵۱-۴۳

● **مقاله تحقیقی** کد مقاله:۰۶

اثرات لاکتوباسیلوس کازئی بعنوان پروبیوتیک بر روند رشد تومور درسرطان پستان موش BALB/c

محمد حسین یزدی۱
دکترمحمدمهدی سلطان دلال ۲*
دکتر زهیر محمد حسن ۳
مرضیه هولاکویی۴
ترانه پیمانه عابدی محتسب۵
سولماز آقا امیری۱
مهدی مهدوی۶
سونیا سید امیری۵

۱.کارشناس ارشد میکروب شناسی ، دانشکده بهداشت ، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲.استاد میکروبیولوژی ، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳.دانشیار ایمنولوژی ،دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
٤.کارشناس ارشد ایمونولوژی مولکولی، انستیتو پاستور ایران
٥.کارشناس میکروبیولوژی ، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
٦.کارشناس ایمونولوژی دانشکده پزشکی ، دانشگاه تربیت مدرس

*نشانی نویسنده مسئول: تهران – دانشکده بهداشت ، بخش میکروب شناسی- دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

مقدمه: لاکتوباسیلوس ها رایجترین میکروارگانیسم های مورد استفاده بعنوان پروبیوتیک می باشند. خواص ضد توموری این دسته از باکتریها در مطالعات گوناگون نشان داده شده ، این خواص احتمالابدلیل وجود ویژگی تنظیم کننده سیستم ایمنی[1] مربوط به این باکتریها می باشد .در مطالعه حاضر هدف بررسی اثرات لاکتوباسیلوس کازئی بعنوان پروبیوتیک برروند رشد تومورو وضعیت موشهای مبتلا به سرطان پستان می باشد.

روش کار: تعداد ۱۸ سر موش ماده ٦تا ۸هفته ای با وزن تقریبی ۳۰-۲۵ گرم در شرایط یکسان بطور تصادفی در دو گروه تقسیم شدند که هرگروه شامل ۹عدد موش بود .یکی از گروه ها بعنوان کنترل در نظر گرفته شد.موشهای گروه اول بمدت ۲هفته قبل از توموری شدن روزانه به میزان نیم میلی لیتر سوسپانسیون لاکتوباسیلوس کازئی (2.7×10^8 CFU/ml)را دریافت کردند و بعد از توموری شدن هم با وقفه های ۳ روزه بصورت دوره های ۷ روزه لاکتوباسیلوس کازئی را در یافت نمودند.گروه دوم بعنوان گروه کنترل در تمام طول مطالعه با حجم یکسان و شرایط مساوی PBS دریافت کردند.

یافته ها: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در موشهای دریافت کننده پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی میزان پاسخ ازدیاد حساسیت تاخیری ٤۸ ساعته در تحریک مجدد با آنتی ژن اختصاصی تومور بیشتراز گروه کنترل دریافت کننده PBS بود که این موضوع از نشانه های تحریک سلولهای Th1 خاطره ای می باشد. علاوه براین سرعت رشد تومورنیز در موشهای گروه لاکتوباسیلوس کازئی کمتر ازگروه کنترل بوده که بیانگرافزایش کارآمدی سیستم ایمنی این گروه از موشها در برابر تومور در مقایسه با گروه کنترل می باشد.همچنین نتایج هیستوپاتولوژی افزایش معنی دار نکروز داخل توموری درلام تهیه شده از تومور موشهای گیرنده پروبیوتیک نسبت به موشهای کنترل را نشان داد.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این مطالعه می توان گفت که مصرف روزانه لاکتوباسیلوس

www.SID.ir

Archive of SID

تلفن:٠٢١-٦٦٤٦٢٢٦٨
دورنگار:٠٢١-٦٦٤٦٢٢٦٧

نشانی الکترونیکی:
soltanda@sina.tums.ac.ir

کازئی می تواند باعث تقویت پاسخ ایمنی علیه تومور شده و احتمالا این پروبیوتیک می تواند بعنوان یک عامل حمایت کننده در درمان سرطان مطرح شود، با توجه به این موضوع، انجام مطالعات بیشتر وبررسی های دیگری جهت شناخت مکانیسم های دقیقتر این اثرات ضروری به نظر می رسد.

واژه گان کلیدی: پروبیوتیک،لاکتوباسیلوس کازئی، رشد تومور،سرطان پستان

تاریخ دریافت مقاله:٨٧/١٢/٢٤ تاریخ اصلاح نهایی:٨٨/٥/٤ تاریخ پذیرش مقاله:٨٨/١/٢٥

١-Immunomodulatory

مقدمه

سرطان پستان یکی از شایعترین بد خیمی های زنان در جهان می باشد که از شیوع متفاوتی در بین ملل مختلف برخوردار است، بطوریکه بالاترین شیوع این بدخیمی مربوط به زنان سفید پوست در آمریکا و کمترین آن مربوط به زنان چینی و ژاپنی می باشد[١]. در سال ٢٠٠١ انجمن سرطان آمریکا ١٩٢٢٠٠ مورد از این بیماری را گزارش نمود که بیانگر اهمیت این مسا له می باشد. در سال ٢٠٠٣ در جامعه آمریکا ٣٩٨٠٠ نفر زن و ۴٠٠ نفر مرد به دلیل ابتلا به سرطان پستان جان خود را از دست دادند. بیشترین میزان این بیماری در کشورهای توسعه یافته اروپایی و شمال آمریکا بوده و بیشترین میزان مرگ و میر این دسته از سرطانها بین سنین ۴٠ تا ۵٠ سال مشاهده می شود. همچنین سالیانه ١۴٠٠٠ مورد مرگ بر اثراین بیماری رخ می دهد [٣و٢] . همچنین سرطان پستان به عنوان دومین سرطان شایع در بین زنان ایرانی مطرح بوده وبر اساس گزارشات موجود میزان شیوع آن در کشور ما ١٠٠٠٠٠/ ١٢٠ می باشد که در مقایسه با برخی از کشورهای غربی ، آمار بالاتری را به خود اختصاص می دهد [۴].

سرطان پستان یک بیماری پیچیده و دارای علائم کلینیکی مختلف و سرانجام های متفاوت می باشد و به نظر می رسد پاسخهای ایمنی نقش عمده ای در روند توسعه این بیماری دارند[۵]. بسیاری از مطالعات صورت گرفته برروی بیماران مبتلا به سرطان پستان حاکی از کاهش پاسخ های ایمنی از جمله پاسخ افزایش حساسیت تاخیری، عملکرد سایتو لیتیک، کاهش تکثیر در سلولهای ایمنی و در نتیجه کاهش سایتوکائینها در اثر ابتلا به این سرطان می باشد[۶]. لذا استفاده از عواملی که موجب تقویت سیستم ایمنی می شوند در کنترل این سرطان نقش مهمی دارند. یکی از عوامل مطرح در تقویت سیستم ایمنی پروبیوتیک ها هستند. پروبیوتیک ها در حقیقت همان باکتریهای مفید در دستگاه گوارش بدن هستند که دارای قابلیت های مختلفی هستند که یکی از مهمترین آنها ایجاد تعادل بین دستگاه گوارش و سیستم ایمنی بدن می باشد [٧]. در واقع پروبیوتیکها دسته ای از میکروارگانیسمها ی زنده هستند که در صورت مصرف به میزان معین، اثرات مفیدی را در سلامت مصرف کنندگان ایجاد می کنند[٨]. این میکروارگانیسم ها دارای اثرات تحریک کنندگی و تقویت کنندگی بر روی سیستم ایمنی می باشند، بطور مثال در مطالعه ای که روی موشهای مبتلا به نقص ایمنی صورت گرفت نقش پروبیوتیک ها به عنوان یک عامل موثر Immunomodulator در بهبود پاسخ ایمنی نشان داده شده است[٩] . امروزه لاکتوباسیلوس ها وبیفیدوباکتریوم ها بیشترین میکرو ارگانیسمها یی هستند که بعنوان پروبیوتیک کاربرد دارند. اثرات مفید گونه های مختلف این باکتریها در مطالعات مختلف نشان داده شده است با این حال این خواص از گونه ای به گونه دیگر متفاوت بوده و در مطالعات گوناگون محققین این خواص را اختصاصی گونه و سویه باکتری دانسته اند[١٠]. از آنجا که برخی سویه های لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس و لاکتو باسیلوس کازئی در مطالعات گذشته به عنوان عوامل موثر در ممانعت از رشد تومورهای پیوندی در مدل های تجربی حیوانی شناخته شده اند [١٢و١١] لذا هدف این مطالعه، بررسی اثرسویه جدید لاکتوباسیلوس کازئی ATCC39392 درتومورسرطان پستان ایجاد شده در مدل موش BALB/c می باشد.

مواد و روشها

میکروارگانیسم:

از کلکسیون قارچها وباکتری های ATCC ٣٩٣٩٢ سویه استاندارد لاکتوباسیلوس کازئی صنعتی وبیماریزای ایران تهیه شده ودر محیط آگار MRS (Merck) کشت داده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

حیوانات آزمایشگاهی:

تعداد 18 عدد موش ماده BALB/c inbred با سن تقریبا ۶ تا۸ هفته از انستیتو پاستورتهران خریداری شدند ودر شرایط استاندارد نگهداری حیوانات آزمایشگاهی (۱۲/۱۲ روشنایی/تاریکی،غذای پلت استاندارد،دمای ۲۴ درجه و رطوبت ۵۲) نگهداری شدند، ضمن اینکه در هر گروه به منظور جلوگیری از از دست رفتن احتما لی موشها در حین مطالعه، ۲ موش اضافه در نظر گرفته شد. ضمنا موشها پس از انتقال به حیوان خانه بمدت یک هفته به منظور تطبیق با شرایط محیط جدید نگهداری شدند وپس از آن مطالعه روی آنها شروع شد.

گروهها و روش تجویز پروبیوتیک

دوز مناسب تجویز و روش تجویز پروبیوتیک به این صورت بود که ابتدا باکتری در محیط MRS کشت داده شده و پس از ۱۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد کلنی های رشد کرده روی CFU جمع آوری شده و با روش رقت سازی (رایج در آزمایشگاهها) میزان $۲/۷\times۱۰^{۸}$ PBS محیط با از باکتری تهیه و روزانه نیم میلی لیتر از این محلول با استفاده از سوزن مخصوص گاواژ به هر موش خورانده شد، بجز گروه کنترل که به میزان مساوی PBS دریافت کردند. در واقع در این مطالعه ۲گروه ۹ تایی موش وجود داشت که ۱۴ روز قبل از پیوند تومورمبه ترتیب گروه اول لاکتوباسیلوس کازئی و گروه دوم بعنوان گروه کنترل بصورت هم حجم PBS دریافت نمودند بعد از پیوند نیزموشها با وقفه های ۳ روزه و بصورت دوره های ۷روزمتوالی بسته به گروه خود پروبیوتیک یا PBS دریافت نمودند واین روند تاپایان روز ۴۴ مطالعه ادامه یافت.(شکل۱)

شکل۱ تهیه دوز مناسب تجویز و نحوه شمارش کلنی

در این شکل روش رایج در رقت سازی و شمارش کلنی نشان داده شده به این ترتیب که ابتدا کل کلنی های رشد کرده در محیط MRS آگار راتوسط ۱ سی سی PBS جمع کرده و به لوله استریل منتقل کرده، سپس ۱ میکرولیتر از این سوسپانسیون را به لوله بعدی که حاوی ۹۹۹ میکرولیتر PBS می باشد منتقل می کنیم و به این ترتیب سوسپانسیون اصلی را $۱۰^{۳}$ بار رقیق کرده ایم . این عمل را یکبار دیگر تکرار کرده و این بار رقت $۱۰^{۳}$ را ۱۰۰۰ بار رقیقتر میکنیم سپس ۱۰۰ میکرولیتر از رقت $۱۰^{۶}$ حاصل را روی محیط MRS آگار کشت داده و ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه کرده، سپس تعداد کلنی های رشد کرده را شمارش می کنیم . در اینجا کلنی های رشد کرده از ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون $۱۰^{۶}$ برابر ۲۷۰ عدد بود که با محاسبات ریاضی می توان آنرا معادل $۲/۷\times۱۰^{۸}$ در نظر گرفت.

تومووری نمودن موشها:

پس از تائید موش تومووری مدل سرطان خودبه خودی (Spontaneous) پستان توسط دکتر حسن و همکارانش ، موش را نخاعی نموده و تومور بصورت استریل از بدن آن خارج و در نرمال سالین استریل با اسکالپل وتیغ جراحی به قطعات ۵ میلی متر مکعبی تقسیم شد، سپس هر کدام از موشها با تزریق داخل صفاقی کتامین/ زایلین (با دوز ۱۰میلی گرم /کیلوگرم از وزن بدن) بیهوش شده و قطعات تقسیم شده تومور با روش جراحی در زیر پوست ناحیه فلانک راست آنها پیوند زده شد و جای جراحی با کلیپس مخصوص بخیه زده شد. حدود یک هفته بعد از پیوند رشد تومورها با چشم قابل دیدن بود.

اندازه گیری سیر رشد تومور در موشهای تومووری:

بدین منظور یک هفته پس از تومووری نمودن موش ها که قطر تومور آنها حدود ۵میلی متر بود حجم تومور در دو جهت طول و عرض اندازه گیری شده و این عمل هر هفته دوبار تا ا نتهای کار با استفاده از کولیس ورنیه صورت گرفت و سپس حجم تومور با فرمول : عرض^{۲} × طول ۱/۲ محاسبه گردید.

بررسی و محاسبه حجم نهایی تومور در موش های تومووری:

جهت بررسی تغییرات مربوط به حجم تومور پس از پیوند و قبل از آغاز تجویز دوباره پروبیوتیک به موش ها حجم تومور با روش اندازه گیری گفته شده در بالا با استفاده از کولیس ورنیه مورد بررسی قرار گرفت ارزیابی حجم تومور هر هفته دوبار انجام شد و این عمل تا یک هفته پس از اخرین تجویز نیز ادامه یافت. بررسی وضعیت حجم تومور براساس درصد افزایش حجم تومور با فرمول مقابل محاسبه گردید.

$$\frac{\text{حجم تومور در روز آخر}}{\text{حجم تومور در روز صفر}} \times ۱۰۰$$

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی میزان التهاب ناشی از DTH:

ابتدا به میزان ۲۰ میکرو لیتر از آنتی ژن اختصاصی تومور(تهیه شده از تومور اصلی) را در کف پای چپ و۲۰ میکرولیتر PBSرا در کف پای راست هر موش از موشهای هر دو گروه پروبیوتیک و کنترل تزریق کرده و سپس قطر التهاب ناحیه تزریق در ۴۸،۲۴و۷۲ ساعت بعد با استفاده از کولیس ورنیه ثبت شد و با استفاده از فرمول مقابل نتایج بررسی گردید.

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

تهیه بافت تومـوری فـیکس شـده و بررسـی هـای پاتولوژیک:

بدین منظور پس از کشتن موشهای هر گروه در پایان روز ۴۴ مطالعه قطعات ۵ میلیمتری از بافت تومور تهیه ودر فرمالین ۳۷٪ بمدت ۶ ساعت فیکس و برای تهیه لام پاتو لـوژی و بررسـی میـزان نکـروز داخل توموری بـه آزمایـشگاه پـاتولوژی بیمارسـتان بقیـه ا... ارسـال گردید.

آنالیز آماری

برای آنالیز آماری نمونه ها از آزمون t-Test استفاده شـد و داده هـا با نـرم افـزار SPSS (ver .13) بررسـی و معنـی داری داده هـا ۰/۰۵ά در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج سیر رشد وحجم نهایی تومور:

نتایج حجم تومور نشان دهنده پایین تر بودن حجم نهـایی تومـور در موشهای گیرنده پروبیوتیک در مقایسه بـا گـروه کنتـرل یـا گیرنـده PBS بود(شکل۲) . در واقع نتایج در گـروه لاکتوباسـیلوس کـازئی نشان داد که سرعت رشد تومور در موشهای گیرنده ایـن پروبیوتیـک نسبت به گروه کنترل کمتر می باشد که احتمالا این پدیـده ناشـی از اثر تقویت کننده گی لاکتوباسیلوس کـازئی بـر سیـستم ایمنـی ایـن گروه از موشها در مقابله با این تومور می باشد(P<۰/۰۰۱).

شـــکل ۲ بررســـی حجـــم نهـــایی تومـــور:

حجم تومور در دو جهت طول و عرض اندازه گیری شده و این عمل دو بار در هفته تا انتهای کار با استفاده از کـولیس ورنیـه صـورت گرفت و سپس حجم تومور با فرمـول ذکـر شـده در قـسمت مـواد و روشها محاسبه گردید.

نتـایج بررسـی میـزان التهـاب ناشـی از DTH در ٤٨ ساعت:

پس ازتهیه آنتی ژن اختصاصی از بافت توموری یک موش مبتلا بـه آدنو کارسینومای پستان با روش سونیکیشن و دیالیز و تخلیص ، این آنتی ژن در پای چپ موشـهای سـرطانی گیرنـده لاکتوباسـیلوس و PBS تزریق شد و برای کنترل از تزریق PBS تنها در پای راسـت آنها استفاده شد . طبق نتایج بدست آمده از این تست در ۴۸ سـاعت پس از تزریق آنتی ژن اختلاف قابل توجهی در التهاب موضعی پای چپ موشهای گیرنده پروبیوتیک در مقایسه با موشهای گروه کنتـرل وجود داشت(P<۰/۰۰۱). (شکل ۳).

شکل ۳ نتایج بررسی میزان التهاب ناشـی از DTH در ٤٨ ساعت:

در ابتدا میزان ۲۰ میکرو لیتر از آنتی ژن اختصاصی تومور(تهیه شـده از تومور اصلی) را در کف پای چپ و۲۰ میکرولیتـر PBSرا در کـف پای راست هر موش از موشهای هر دو گـروه پروبیوتیـک و کنتـرل تزریق کرده و سپس قطر التهاب ناحیه تزریق در۴۸،۲۴ و۷۲ سـاعت بعد با استفاده کولیس ورنیه ثبت شد.نتایج در گروه گیرنده پروبیوتیک در ۴۸ ساعت پس از تزریق دارای اختلاف قابـل تـوجهی نـسبت بـه گروه کنترل می باشد(P<۰/۰۰۱).

نتـایج هیـستوژاتولوژی بافـت تومـور در دو گروه

پس از پایان دوره مطالعه، بافت توموری ازبدن هر یک از موشها جدا و در فرمـالین ۳۷٪ فـیکس و طبـق روش کـار معمـول در آزمایشگاههای پاتولوژی از آنهـا لام میکروسـکوپی تهیـه وبـا رنـگ آمیزی H&E (هماتوکسیلین-ائـوزین) رنـگ شـده ونتـایج میـزان نکروز داخل بافت توموری بررسـی شـد . ایـن نتـایج نـشان دهنـده افزایش معنـی دار (P<۰/۰۰۵) میـزان نکـروز داخـل تومـور در اثـر تقویـت پاسـخهای ضـد تومـوری در گـروه گیرنـده پروبیوتیـک لاکتوباسیلوس کازئی در مقایسه با گروه کنترل بود همچنین ارتـشاح سلولهای دفاعی و تشکیل Giant cell هـا و هیـستوسیت هـا در

www.SID.ir

Archive of SID

داخل بافت تومور گروه گیرنده پروبیوتیک بیشترمی باشد. آنالیز داده های پاتولوژی بر اساس میزان نکروز در شکل ۴ وعکس لامها در شکل ۵ مشاهده می شود.

شکل ٤ نتایج میزان نکروز داخل توموری :

نتایج پاتولوژی بیانگر افزایش معنی دار($P<0/005$) میزان نکروز داخل توموری در گروه گیرنده لاکتوباسیلوس کازئی نسبت به گروه کنترل می باشد که عکس های موجود در شکل ۵ میزان نکروز را نشان میدهد.

شکل۵ نتایج هیستوپاتولوژی:

لامهای پاتولوژی بر اساس روش رایج در آزمایشگاههای پاتولوژی از بافت تومور فیکس شده در فرمالین ۳۷٪ تهیه وبا رنگ آمیزی H&E رنگ گردید.A: در این عکس قسمتهای مشخص شده با دایره نشان دهنده رگ های اطراف تومور هستند که داخل آنها از RBC پر شده که در گروه کنترل بیشتر به چشم می آیند و وظیفه آنها خونرسانی و تغذیه سلولهای توموری می باشد ضمنا ناحیه نکروز شده (منطقه مشخص شده با کادر مستطیل) و ارتشاح سلولهای ایمنی و تشکیل Giant cell ها در مقایسه با گروه گیرنده پروبیوتیک بسیار کمتر می باشد.B: در این عکس منطقه نکروز شده داخل تومور با ارتشاح سلولهای هیستوسیتی در گروه پروبیوتیک دیده می شود که در مقایسه با گروه کنترل منطقه نکروز شده در گروه گیرنده پروبیوتیک وسیعتر می باشد و تعداد سلولهای هیستوسیت و تشکیل giant cell ها که مسئول پاکسازی بقایای موجود از عملکرد سایتولیز سلولهای توموری توسط سلولهای ایمنی می باشند در این گروه بیشتر است . همچنین رگزایی در اطراف تومور در این گروه بسیار کمتر به چشم می خورد.C: در این عکس رشد سلولهای توموری و رگ های اطراف آن دیده می شود.D: دراین عکس تشکیل Giant cell ها و هیستوسیت ها ومنظره نکروز سلولهای توموری با بزرگنمایی بیشتر دیده می شود.

بحث

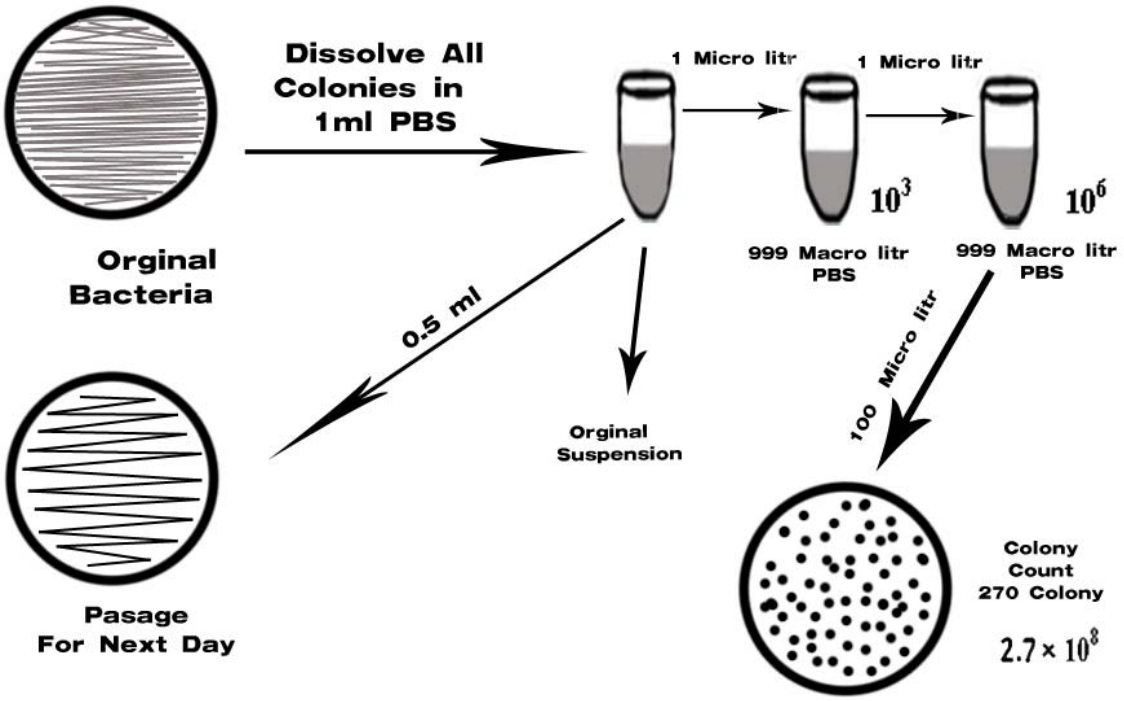
سرطان پستان بعنوان یکی از شایعترین بد خیمی های زنان در سراسر جهان بسیار مورد توجه می باشد[۱]. بسیاری از مطالعات صورت گرفته روی بیماران مبتلا به سرطان پستان حاکی از کاهش پاسخ های ایمنی از جمله پاسخ افزایش حساسیت تاخیری، عملکرد سایتو لیتیک، کاهش تکثیر در سلولهای ایمنی و در نتیجه کاهش سایتوکائینها در اثر ابتلا به این سرطان می باشد که در حقیقت بیانگر یک وضعیت ایمنو ساپرشن می باشد[۶]. بنابراین در چنین شرایطی استفاده از عوامل تقویت کننده سیستم ایمنی می تواند در تعیین پیش آگهی بهتر در این سرطان بسیار کمک کننده باشد. باکتریهای خانواده لاکتوباسیل به طور رایج بعنوان پروبیوتیک در ماست وسایر لبنیات استفاده می شوند. ویژه گیهای تنظیم کننده گی و تحریک کننده گی این باکتریها بر روی سیستم ایمنی میزبان به خوبی در مطالعات گذشته مشخص گردیده است [۷و۸]. در واقع این دسته از باکتری ها دارای تاثیرات مثبت زیادی در بدن هستند که از آن جمله می توان به جلوگیری از کارسینوژنزیس و رشد تومور اشاره کرد [۱۳]. یکی از مسائلی که در مورد لاکتوباسیلوسها و وجود آنها به عنوان فلور گوارشی درانسان و بسیاری از حیوانات مطرح می باشد این است که خواص تقویتی وتحریکی این عوامل فقط محدود به ایمنی مخاطی نبوده بلکه این باکتریها میتوانند با مکانیسم های مختلف سیگنالهای لازم جهت تحریک و تقویت سیستم ایمنی مرکزی را نیز مخابره کنند و در این رابطه گزارشات زیادی مبنی بر کاربرد این عوامل در مقابله با عفونتهای مختلف ، سرطانها و سایر ناهنجاری های ایمنولوژیک وجود دارد[۱۴]. در مطالعات گذشته نشان داده شده که سایتوکائینهای القائی بواسطه لاکتو باسیل ها دارای نقش عمده ای در القا خواص تنظیم کننده گی این عوامل بر روی سیستم ایمنی هستند[۱۵]. بر طبق 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 مکانیسم های سایتولیز سلولهای توموری از جمله فعالیت سلولهای NK می باشد، می توان این برداشت را از اثر پروبیوتیک برکارآمدی بیشتر پاسخهای ایمنی و وضعیت دفاعی بدن در مقابل تومور داشت که افزایش میزان التهاب موضعی در تست DTH در موشهای گیرنده پروبیوتیک می تواند دلیلی بر فعالیت بیشتر سلولهای Th1 در موشها باشد چرا که پاسخ افزایش حساسیت تاخیری DTH نسبت به آنتی ژنی که بدن در ابتدا با آن مواجه بوده و پس از مدتی دوباره با آن برخورد می کند در واقع یک نوع پاسخ ثانویه ناشی از عملکرد سلولهای Th1 خاطره ای می باشد که این التهاب کمی پس از تماس دوباره با آنتی ژن آغاز شده و معمولا در ۴۸ ساعت به اوج رسیده و پس از ۷۲ ساعت فرو کش می نماید[۱۶]. همچنین به نظر می رسد تاثیر تجویز پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی بر افزایش التهاب موضعی علیه آنتی ژن اختصاصی تومور ناشی تقویت پاسخ ایمنی سلولی وابسته به لنفوسیتهای Th1 می باشد. در مورد نتایج بدست آمده از بررسی های پاتولوژی باید گفت که صرف نظر از نکروز ایجاد شده در مرکز تومور در اثر رشد در اطراف و ایسکمی در مرکزبافت توموری (این

www.SID.ir

Archive of SID

مورد در آنالیز داده های پاتولوژی حذف شد) ، میزان نکروز ناشی از عملکرد سلولهای دفاعی بدن در بافت تومور موشهای گیرنده لاکتوباسیلوس کازئی بطور چشمگیری بیشتر از موشهای کنترل بود. بعلاوه ارتشاح سلولهای ایمنی از جمله لنفوسیتها و سلولهای پلی مورفونوکلئر در داخل تومور موشهای گیرنده پروبیوتیک نیز حاکی از تقویت عملکرد سیستم ایمنی در این موشها بود که در عکس های بالا وجود هیستوسیتها و تشکیل Giant cell ها و ماکروفاژهای کف آلود در گروه گیرنده پروبیوتیک (عکسهای C,D) تائیدی بر این ادعا می باشد. همچنین داده های مربوط به حجم نهایی تومور بیانگر کاهش قابل توجه حجم تومور در موشهای گیرنده پروبیوتیک می باشد که این نیز می تواند تائیدی بر فعال شدن و کارآمدی سیستم ایمنی در مقابله با تومور و جلوگیری از رشد آن در نتیجه تجویز لاکتوباسیلوس کازئی باشد. با توجه به مجموعه نتایج این مطالعه باید گفت می توان به نتایج رضایت بخش از انجام مطالعات انسانی با استفاده از این پروبیوتیک درتقویت سیستم ایمنی مبتلایان به این نوع سرطان امیدوار بود، ولیکن هنوز هم نیاز به مطالعات بیشتر برای شناخت دیگر مکانیسمها و اثرات دقیقتر پروبیوتیکها بر پاسخهای ایمنی در مقابله با تومورها وجود دارد.

تقدیر و تشکر: این تحقیق بعنوان بخشی از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد آقای محم حسین یزدی در بخش میکروب شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد و بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه بدلیل حمایتهای مادی و معنوی از این طرح تقدیر و تشکر بعمل می آید.

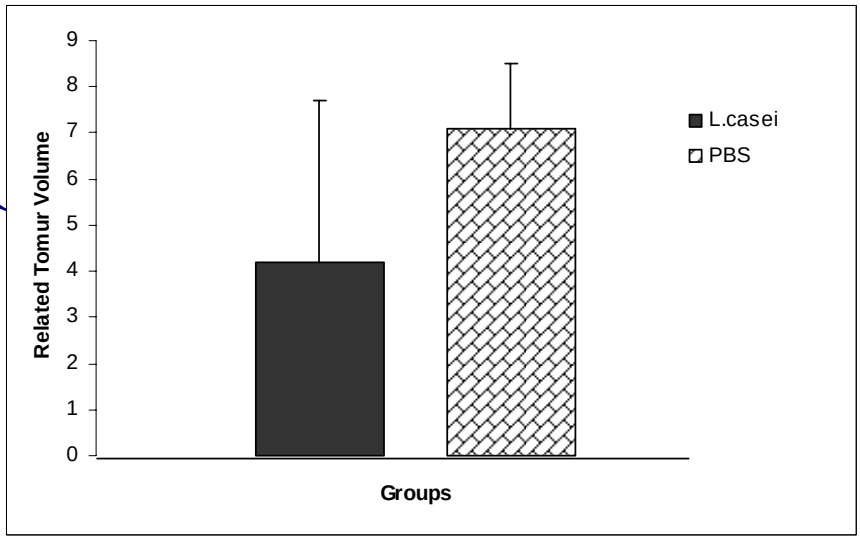


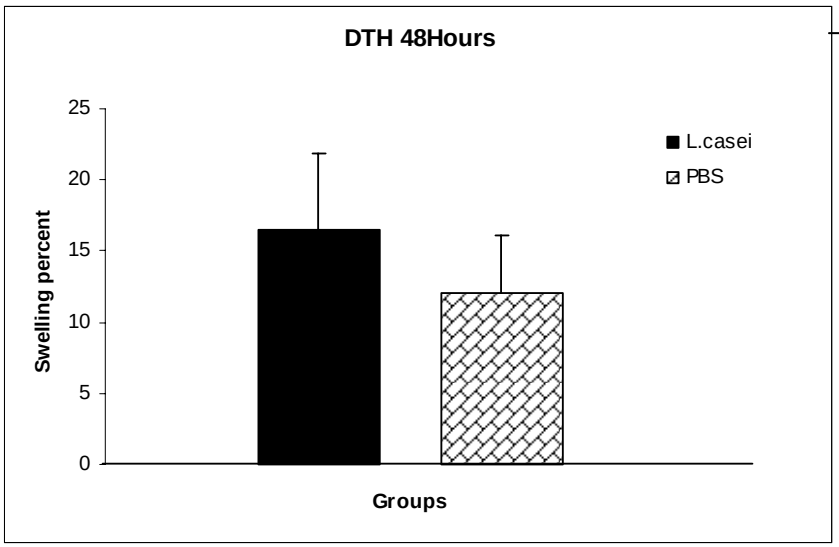
شکل۱ تهیه دوز مناسب تجویز و نحوه شمارش کلنی

www.SID.ir

Archive of SID

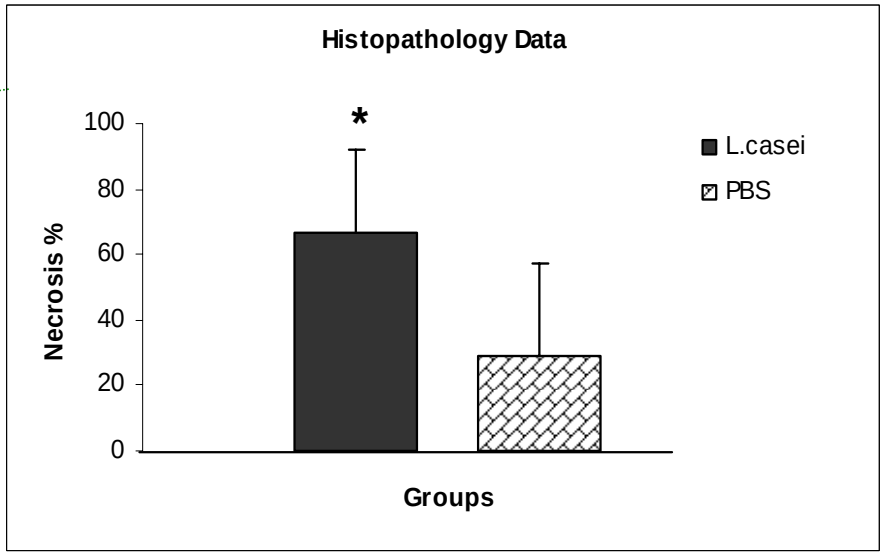
شکل ۲ بررسی حجم نهایی تومور





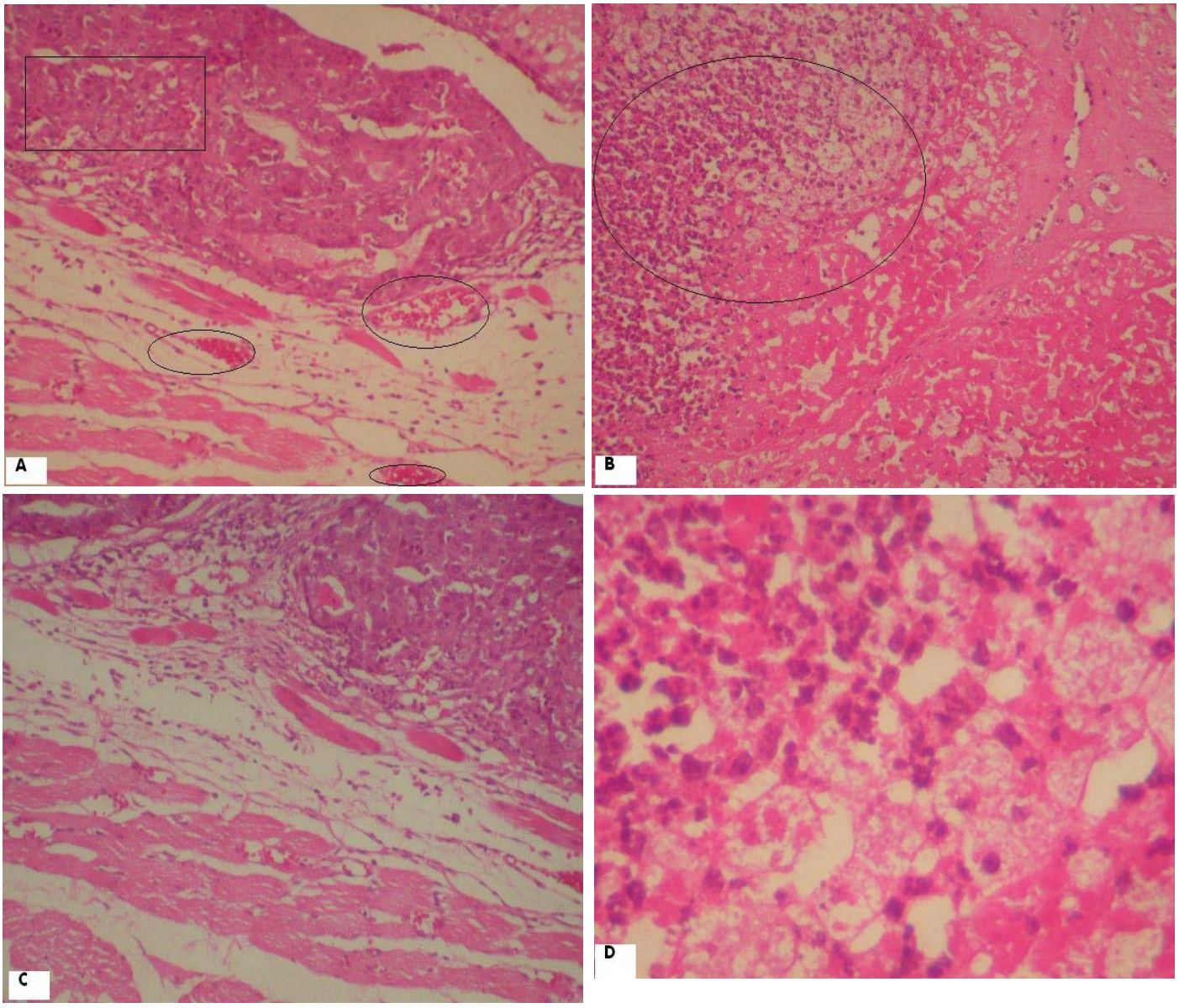
شکل ۳ نتایج بررسی میزان التهاب ناشی از DTH در ۴۸ ساعت

شکل ٤ نتایج میزان نکروز داخل توموری



www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵ نتایج هیستو پاتولوژی

www.SID.ir

Archive of SID

مراجع

1- *Willett W. The search for the causes of breast and colon cancer. Nature 1989; 338(6214): 389-94.*

2- *Ahmedin J, Taylor M, Alicias . Cancer statistic. Cancer journal for clinicians. 2003; 53-26*

3- *Breast cancer facts&figures.American society,Inc.2003-2004*

4- *Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, et al. breast cancer in Iran: an epidemiological review. Breast Journal 2007; 13(4): 383-91.*

5-. *Stewart TH, Heppner GH . Immunological enhancement of breast cancer. Parasitology 1997; 115: 41-53.*

6- *Marrogi AJ, Munshi A, Merogi AJ, et al. Study of tumor infiltrating lymphocytes and transforming growth factor-beta as prognostic factors in breast carcinoma. Int J Cancer 1997; 74(5): 492-501.*

7- *Drisko JA, Giles CK, Bischoff BJ. Probiotics in health maintenance and disease prevention. Altem med Rev 2003 ; 8(2): 143-55.*

8- *Schrezenmeir J , de Vrese M. Probiotics, prebiotics and synbiotics-Approaching a definition. Am J Clin Nutr 2001; 73: 362S–364S.*

9- *Bujalancel C, Moreno E, Jimenez-Valera M , Ruiz Bravo A. A probiotic Strain of lactobacillus plantarum stimulates lymphocyte responses in immunologically intact and immunocompromised mice. Int J Food Microbiol 2007; 23-34.*

10- *Kirjavainen PV, El-Nezami HS, Salminen SJ, Ahokas JT, Wright FA. The effect of orally administered viable probiotic and dairy lactobacilli on mouse lymphocyte proliferation. FEMS Immunol Med Microbiol 1999; 26: 131–135.*

11- *Asano M, Karasawa E , Takayama T. Antitumor activity of Lactobacillus casei (LC 9018) against experimental mouse bladder tumor (MBT-2). J Urol 1986; 136(3): 719-21.*

12- *McIntosh GH, Royle PJ, Playne MJ . A probiotic strain of L. acidophilus reduces DMH-induced large intestinal tumors in male Sprague-Dawley rats. Nutr Cancer 1999; 35(2): 153-9.*

13- *de Roos NM, Katan MB. Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. Am J Clin Nutr 2000; 71(2): 405-11.*

14- *Perdigon G, Fuller R, Raya R. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. Curr Issues Intest Microbiol 2001; 2(1): 27-42.*

15. *Levings MK, Bacchetta R, Schulz U, Roncarolo MG. The role of IL-10 and TGF-beta in the differentiation and effector function of T regulatory cells. Int Arch Allergy Immunol 2002; 129(4): 263-76.*

16- *de Waard R, Garssen J, Snel J, Bokken GC, Sako T, Veld JH, Vos JG. Enhanced antigen-specific delayed-type hypersensitivity and immunoglobulin G2b responses after oral administration of viable Lactobacillus casei YIT9029 in Wistar and Brown Norway rats. Clin Diagn Lab Immunol 2001; 8(4):762-7.*

www.SID.ir