Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 11:40 IRDT on Tuesday September 10th 2013

اثرات تعدیلی لاکتوباسیلوس روتری بر پارامترهای ایمنی سلولی در آدنوکارسینومای پستان موش

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۸/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۹/۳۰

محمد مهدی سلطان‌دلال[۲و۱*]
سلیمان مکری[۱]، محمد حسین یزدی[۳]
ترانه پیمانه عابدی محتسب[۱]
لیلا شیرازی[۱]، مهدی مهدوی[۴]

۱- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت
۲- مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی مواد غذایی
۳- گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی

دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۴- گروه ویروس‌شناسی، انستیتو پاستور تهران، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه پاتوبیولوژی
تلفن: ۸۸۹۹۲۹۷۱-۰۲۱
E-mail: soltanirad34@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به اثرات ایمونومدولاتوری باکتری‌های خانواده *لاکتوباسیلوس* به‌عنوان پروبیوتیک، هدف بررسی ما اثر تجویز خوراکی *لاکتوباسیلوس روتری* روی سایتوتوکسیسیتی سلول‌های کشنده طبیعی و پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های اختصاصی تومور *لاکتوباسیلوس روتری* موش‌های BALB/c مبتلا به آدنوکارسینومای پستان بود. ***روش بررسی:*** تعداد ۳۰ سر موش ماده شش تا هشت هفته‌ای با وزن تقریبی ۱۷ تا ۱۹ گرم به دو گروه ۱۵ تایی تقسیم شدند یک گروه، *لاکتوباسیلوس روتری* در دوز $۲/۷\times۱۰^{۸}$ باکتری در نیم میلی‌لیتر بافر فسفات استریل دریافت نمودند. گروه کنترل بافر فسفات نمکی Phosphate Buffered Saline (PBS) دریافت کردند. موش‌های گروه پروبیوتیک به‌مدت دو هفته قبل از توموری شدن، باکتری دریافت کردند. بعد از توموری شدن نیز ۳۰ روز با وقفه‌های سه‌روزه به‌صورت دوره‌های هفت روزه *لاکتوباسیلوس روتری* را دریافت نمودند. بررسی میزان سایتوتوکسیسیتی سلول‌های کشنده طبیعی و پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های اختصاصی تومور به‌ترتیب با تکنیک‌های LDH assa (Takara, Japan) و Brdu (Roche, Germany) بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده عمل گردید. ***یافته‌ها:*** نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در موش‌های گروه دریافت‌کننده لاکتوباسیلوس روتری به‌عنوان ایمونومدولاتور، پاسخ تکثیری لنفوسیت‌ها اختصاصی تومور و پاسخ سایتوتوکسیسیتی سلول‌های کشنده طبیعی و پاسخ ازدیاد حساسیت تاخیری نسبت به گروه کنترل دریافت‌کننده PBS اختلاف معنی‌داری داشت. ***نتیجه‌گیری:*** مصرف روزانه پروبیوتیک‌ها به‌عنوان یک عامل تنظیم‌کننده سیستم ایمنی در افراد مبتلا به سرطان می‌تواند مفید باشد. ضمن این‌که در افراد سالم هم مصرف این پروبیوتیک می‌تواند با تقویت سیستم ایمنی باعث کارآمدی بیش‌تر آن در برابر ناهنجاری‌های مختلف گردد.

کلمات کلیدی: *لاکتوباسیلوس روتری*، سرطان پستان، موش BALB/c، سایتوتوکسیسیتی سلول‌های کشنده طبیعی، لنفوسیت‌های اختصاصی تومور.

Archive of SID

مقدمه

سرطان پستان (Breast cancer) یکی از انواع سرطان با شیوع بالا می‌باشد که هر ساله باعث مرگ و میر زیادی بین زنان و مردان می‌شود و علی‌رغم پیشرفت‌های اخیر در تشخیص و درمان مناسب این بیماری هنوز هم به‌عنوان شایع‌ترین عامل مرگ و میر به‌علت سرطان در بین زنان مطرح می‌باشد.[۱] مطالعات مختلفی بر روی بیماران مبتلا به سرطان پستان نشان داده‌اند که باعث کاهش پاسخ ایمنی شامل کاهش پاسخ ازدیاد حساسیت تاخیری، کاهش پاسخ تکثیری سلول‌های ایمنی و بنابراین باعث کاهش سایتوکین‌ها به‌علت این سرطان می‌شود.[۲] بنابراین، فاکتورهایی که باعث افزایش پاسخ ایمنی می‌شوند ممکن است نقش مهمی در کنترل این بیماری داشته باشند. یکی از این فاکتورهایی که باعث تقویت سیستم ایمنی می‌شوند پروبیوتیک‌ها هستند. در حقیقت، پروبیوتیک‌ها باکتری‌های

www.SID.ir

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 11:40 IRDT on Tuesday September 10th 2013

مفید درون سیستم گوارشی هستند، که دارای اثرات مفید زیادی هستند و نقش مهمی در تعدیل سیستم گوارشی و سیستم ایمنی دارند.[۳] این میکروارگانسیم‌ها دارای اثرات تحریک‌کنندگی و تقویت‌کنندگی روی سیستم ایمنی می‌باشند.[۴] امروزه، لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها بیش‌ترین باکتری‌هایی هستند که به‌عنوان پروبیوتیک استفاده می‌شوند. اثرات مفید مختلف گونه‌های مختلف این باکتری‌ها در طی مطالعات مختلف نشان داده شده است.[۵] در این میان استفاده از گونه‌هایی که باعث افزایش ایمنی سلولی و هم‌چنین باعث تحریک سلول‌های کشنده طبیعی در سرطان می‌شود بسیار کاربردی می‌باشد. لنفوسیت‌های T دارای اهمیت فراوان در دفاع میزبان علیه تومور و تحریک پاسخ ایمنی علیه تومور می‌باشند.[۶] سلول‌های کشنده طبیعی، سلول‌های موثری در پاسخ ایمنی علیه تومور می‌باشند. سلول‌های کشنده طبیعی باعث تخریب سلول‌های هدف توسط آزادسازی پرفورین می‌شوند.[۷] در این مطالعه، ما اثرات تعدیل‌کنندگی *لاکتوباسیلوس روتری* را در تحریک سلول‌کشی سلول‌های کشنده طبیعی و تحریک تکثیر لنفوسیت‌های اختصاصی تومور بررسی گردید.

روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی و از بهار تا تابستان ۱۳۹۰ در بخش میکروب‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد.

حیوانات: موش‌های ماده BALB/c با سن، پنج تا هفت هفته‌ای که هر کدام دارای وزن تقریبی ۲۰ تا ۲۵ گرم بودند از انستیتو پاستور تهران خریداری شد. آن‌ها به دو گروه کنترل و گروه پروبیوتیک تقسیم شدند که هر گروه دارای ۱۵ موش بود. موش‌ها درون قفس‌های پلاستیکی نگه‌داری شدند که دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند و در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی نگه‌داری شدند. موش‌های گروه کنترل و پروبیوتیک در قفس‌های جداگانه اما در شرایط یکسانی نگه‌داری شدند (دمای ۲۳ °C و رطوبت ۵۵٪).

میکروارگانسیم‌ها و روش تجویز پروبیوتیک: باکتری لاکتوباسیلوس روتری American Type Culture Collection (ATCC) 23272 از فریزر ۷۰ °C– دانشکده بهداشت، گروه میکروب‌شناسی تهیه شد. سپس برای ۲۴ ساعت در محیط کشت Brain Heart Infusion broth (BHI) در شرایط میکروآئروفیل کشت شد و سپس روی de Man, Rogosa and Sharpe agar (MRS) آگار به‌مدت ۴۸ ساعت کشت شد. سرانجام باکتری‌ها برای تهیه رقت درون PBS استریل جمع‌آوری شد. روش شمارش کلنی برای بررسی تعداد کلنی‌های رشد انجام شد. تعداد کل باکتری‌ها در رقت 10^8 تقریبا Colony-Forming Units (CFU)/ml $3/0\times10^8$ بود. سرانجام میزان نیم میلی‌لیتر از این رقت توسط گاواژ معدی به گروه پروبیوتیک از راه دهانی خورانده شد و گروه کنترل نیز همین میزان PBS استریل را به‌همین طریق طبق روشی که در زیر توضیح داده می‌شود، دریافت نمودند. گروه کنترل به‌صورت روزانه برای مدت دو هفته قبل از پیوند تومور و با وقفه‌های سه روزه با دوره‌های هفت روزه تا روز سی‌ام بعد از پیوند تومور PBS استریل دریافت نمودند. گروه پروبیوتیک نیز مشابه این دوره زمانی رقت تهیه‌شده از باکتری را دریافت نمودند.[۸]

پیوند تومور: سرطان پستان خودبه‌خودی موش به‌عنوان استوک در این مطالعه استفاده شد. بعد از نخاعی نمودن موش استوک توموری، تومور از بدن موش جداسازی شده و درون PBS استریل به قطعات $0/5cm^3$ توسط تیغه اسکالپل قطعه‌قطعه شدند. موش‌های گروه کنترل و پروبیوتیک توسط کتامین و زایلین (۱۰mg/kg) بی‌هوش شدند و قطعات توموری روی فلانک راست موش پیوند شد.[۹]

بررسی میزان Proliferation لنفوسیت‌های اختصاصی تومور در تحریک با آنتی‌ژن اختصاصی تومور با روش Brdu: بدین‌منظور پس از تهیه کشت سلول طحالی سوسپانسیونی به‌میزان دو میلیون سلول در میلی‌لیتر تهیه شد و در پلیت‌های مسطح ۱۰۰ میکرولیتر از آن را در چاهک ریخته و سپس به‌ترتیب با غلظت ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از آنتی‌ژن اختصاصی تومور مواجهه شدند. حفرات کنترل مطالعه در عدم حضور آنتی‌ژن و کنترل مثبت با پنج میکروگرم در میلی‌لیتر Phytohemaglutinin A (PHA) تحریک شدند. حجم نهایی چاهک‌ها ۲۰۰ میکرولیتر بود، به‌عنوان بلانک از محیط Roswell Park Memorial Institute medium (RPMI) -1640+ 10% Fetal Bovine Serum (FBS) خالی استفاده شد. پلیت‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ °C و در مجاورت با CO_2 انکوبه شدند و پس از ۷۲ ساعت به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر ماده Brdu اضافه کرده و ۱۸ ساعت دیگر انکوباسیون ادامه یافت پس از این مدت پلیت‌ها در

www.SID.ir

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 11:40 IRDT on Tuesday September 10th 2013

۳۰۰g به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و مایع رویی به‌طور کامل خارج گردید. سپس پلیت با کمک سشوار خشک شده و به آن ۲۰۰ میکرولیتر بافر فیکس/ دناتورکننده به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق اضافه شد پس از آن مایع خارج شده و مقدار ۱۰۰µl آنتی‌بادی ضد Brdu برای مدت دو ساعت در شرایط آزمایشگاه اضافه شد و پس از آن پلیت چهار بار با بافر شستشو PBS-T20 شستشو داده شد. در مرحله بعد سوبسترای TMB به‌مقدار ۱۰۰µl برای پنج دقیقه اضافه و به‌کمک ۱۰۰µl از اسید سولفوریک 2N واکنش متوقف و سپس در طول موج ۴۵۰ نانومتر جذب سلول‌های تحریک‌شده به تحریک‌نشده به‌عنوان نشانه تحریکی قرائت و محاسبه شد.[۱۰]

اندازه‌گیری مقدار سایتوتوکسیسیتی NK Cells در موش توسط تکنیک Lactate Dehydrogenase assay (LDH assay): ابتدا از سوسپانسیون به‌دست آمده از طحال رقت‌های ۲×۱۰^{۷} و ۱×۱۰^{۷} و ۵×۱۰^{۶} در محیط کشت RPMI-1640 حاوی یک درصد تهیه گردید. سپس رده سلول K562 به‌تعداد ۲×۱۰^{۵} سلول در محیط RPMI-1640+ 1% Bovine Serum Albumin (BSA) تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر در پلیت ۹۶ خانه‌ای U شکل کشت داده شد و به‌میزان ۱۰۰µl از رقت‌های سلولی مذکور به‌صورت سه‌تایی روی سلول‌های K562 در پلیت ۹۶ خانه‌ای U شکل ریخته شد. سپس سلول طحالی تنها، سلول K562 تنها، و محیط کشت تنها به‌عنوان کنترل‌های منفی و بلانک و سلول K562 به‌همراه تریتون X100 ۲٪ به‌عنوان کنترل لیز حداکثر استفاده شد. پلیت به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰g سانتریفوژ شد. به‌مدت چهار ساعت در انکوباتور ۳۷ °C انکوبه شد. پس از انکوباسیون مجددا پلیت‌ها در ۳۰۰g به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. به‌میزان ۱۰۰µl از مایع رویی هر حفره‌ای را به پلیت ۹۶ خانه‌ای مسطح جدید انتقال داده شد. سپس ۱۰۰µl بافر کیت LDH به‌تمامی حفرات اضافه شد و پلیت‌ها در تاریکی در شرایط آزمایشگاه به‌مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شد. سرانجام با افزودن ۵۰ میکرولیتر HCL 2N واکنش متوقف شد و پلیت‌ها در طول موج ۴۹۲ نانومتر قرائت شد.[۱۱]

میزان سایتوتوکسیسیتی با فرمول $\frac{\text{low control}}{\text{high control}} \times \text{low control} \times 100$ محاسبه شد. آزمایشات سایتوتوکسیسیتی سلول‌های کشنده طبیعی Natural Killer (NK) cells و پرولیفراسیون لنفوسیت‌های اختصاصی تومور به‌صورت سه‌تایی انجام شد. از اعداد به‌دست آمده میانگین گرفته و از این میانگین‌ها در آنالیز آماری استفاده شد. روش آنالیز آماری روش غیر پارامتریک بوده و آزمونی Mann-Whitney U-test (نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۵) بود و حدود اطمینان ۹۵٪ در نظر گرفته شد. ارزش کم‌تر از P=۰/۵ به‌معنی معنی‌دار بودن بوده است.

یافته‌ها

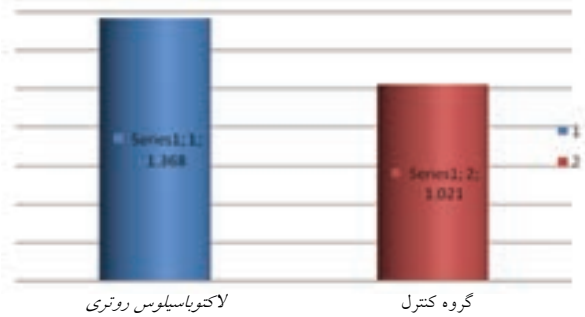
نتایج اثرات *لاکتوباسیلوس روتری* بر روی تکثیر لنفوسیت‌های اختصاصی تومور در نمودار ۱ ارایه شده است. مقادیر در گروه پروبیوتیک به‌میزان قابل‌توجهی بیش‌تر از گروه کنترل بود. تحریک سلول‌های طحالی با آنتی‌ژن اختصاصی تومور در گروه *لاکتوباسیلوس روتری* نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری در تست Brdu نشان می‌دهد (P=۰/۰۰۸). نتایج اثرات *لاکتوباسیلوس روتری* بر روی سایتوتوکسیسیتی سلول‌های کشنده طبیعی در نمودار ۲ ارایه شده است. مقادیر در گروه پروبیوتیک به‌میزان قابل‌توجهی بیش‌تر از گروه کنترل بود. سایتوتوکسیسیتی سلول‌های کشنده طبیعی در گروه دریافت‌کننده *لاکتوباسیلوس روتری* نسبت به گروه کنترل دریافت‌کننده PBS افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد (P=۰/۰۳۴).

بحث

بعد از کشف سلول‌های کشنده طبیعی در سال ۱۹۷۵ عملکرد مهم آن‌ها در دفاع از بدن علیه تومور آشکار شد. مطالعات مختلفی برای اثبات ارتباط بین تومور و درصد یا فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی انجام شد. گزارشات ضد و نقیضی در مورد این ارتباط ارایه شد. بسیاری از محققین کاهش فعالیت یا کاهش تعداد سلول‌های کشنده طبیعی در بیماران مبتلا به سرطان در مقایسه با گروه کنترل را گزارش نمودند.[۱۲و۱۳] مطالعات دیگر، تغییری در میزان فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی در بیماران مبتلا به سرطان گزارش نکرده‌اند.[۱۴و۱۵] یا حتی افزایش فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی را در مقایسه با گروه کنترل گزارش نموده‌اند. پروبیوتیک‌ها سطوح مختلفی از اثر بر روی سیستم ایمنی را نشان می‌دهند که شامل افزایش سطح سایتوکین‌ها و ایمونوگلوبولین‌ها، افزایش تکثیر سلول‌های مونونوکلئار، افزایش فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی، تعدیل خود ایمنی و تحریک فعالیت سلول‌های ایـمنی علیـه باکتری‌ها و تک‌یـاخته‌ها می‌باشد.[۱۶و۱۷] استفاده

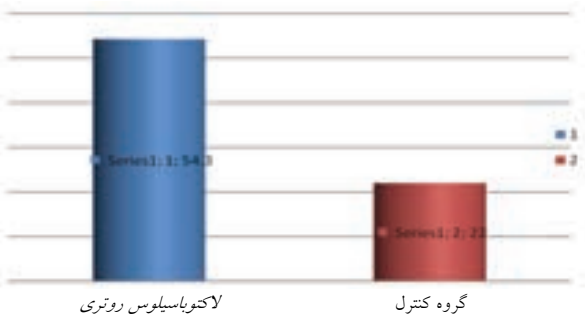
www.SID.ir

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 11:40 IRDT on Tuesday September 10th 2013



نمودار-۱: مربوط به تکثیر لنفوسیت‌های اختصاصی تومور در تحریک با آنتی‌ژن اختصاصی تومور.

نمودار نشان‌گر اثر باکتری *لاکتوباسیلوس روتری* بر روی تکثیر لنفوسیت‌های اختصاصی تومور می‌باشد که در مقایسه با گروه کنترل به‌میزان قابل‌توجهی اندیکس تحریک بالاتری را نشان می‌دهد (مقیاس سمت چپ نمودار اندیکس تحریک می‌باشد) (P=۰/۰۰۸).



نمودار-۲: مربوط به سایتوتوکسیسیتی سلول‌های کشنده طبیعی (NK cells).

نمودار نشان‌گر میزان سایتوتوکسیسیتی سلول‌های کشنده طبیعی در دو گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده *لاکتوباسیلوس روتری* می‌باشد که در گروه *لاکتوباسیلوس روتری* به‌میزان قابل‌توجهی میزان سایتوتوکسیسیتی بیش‌تر از گروه کنترل است (مقیاس اعداد سمت چپ نمودار درصد سایتوتوکسیسیتی می‌باشد) (P=۰/۰۳۴).

روزانه از باکتری‌های مفید به‌عنوان مکمل غذایی نشان داده‌اند که باعث تحریک بهبودی و کاهش خطر بیماری‌های مختلف می‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که مصرف پروبیوتیک‌ها می‌توانند باعث ممانعت از پیشرفت سرطان شوند.[۱۸و۱۹] در این مطالعه ما خواص ایمونومدولاتوری *لاکتوباسیلوس روتری* را بر روی سلول‌کشی سلول‌های کشنده طبیعی و تکثیر لنفوسیت‌های اختصاصی تومور در موش‌های مبتلا به سرطان پستان بررسی نمودیم. نتایج ما افزایش قابل‌توجهی در سطح سلول‌کشی سلول‌های کشنده طبیعی نشان داد. نتایج حاضر حاکی از آن است که مصرف روزانه *لاکتوباسیلوس روتری* می‌تواند باعث تعدیل پاسخ ایمنی توسط تحریک پاسخ قوی سلول‌کشی سلول‌های کشنده طبیعی شود. سلول‌های کشنده طبیعی نقش موثری در دفاع از بدن علیه تومور دارند و می‌توانند پاسخ‌های ایمنی را در افراد با خطر بالای ابتلا به سرطان را بهبود بخشند. اگر چه، مطالعات دیگری برای یافتن اثرات دیگر این باکتری‌ها برروی سلامت افراد مورد نیاز است.

سپاسگزاری: این مقاله نتیجه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به‌شماره قرارداد ۱۰۵۴۹ مورخ ۱۳۸۹ می‌باشد.

References

1. Howell A, Sims AH, Ong KR, Harvie MN, Evans DG, Clarke RB. Mechanisms of Disease: prediction and prevention of breast cancer: cellular and molecular interactions. *Nat Clin Pract Oncol* 2005;2(12):635-46.
2. Marrogi AJ, Munshi A, Merogi AJ, Ohadike Y, El-Habashi A, Marrogi OL, 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.
3. Drisko JA, Giles CK, Bischoff BJ. Probiotics in health maintenance and disease prevention. *Altern Med Rev* 2003;8(2):143-55.
4. Bujalance 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;113(1):28-34.
5. 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.
6. Diederichsen AC, Zeuthen J, Christensen PB, Kristensen T. Characterisation of tumour infiltrating lymphocytes and correlations with immunological surface molecules in colorectal cancer. *Eur J Cancer* 1999;35(5):721-6.
7. Hernberg M. Lymphocyte subsets as prognostic markers for cancer patients receiving immunomodulative therapy. *Med Oncol* 1999;16(3):145-53.

www.SID.ir

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 11:40 IRDT on Tuesday September 10th 2013

8. Soltan Dallal MM, Yazdi MH, Hassan ZM, Holakuyee M, Abedi Mohtasab TP, Aminharaty F, et al. Effect of oral administration of lactobacillus acidophilus on the immune responses and survival of BALB/c mice bearing human breast cancer. *Tehran Univ Med J* 2010;67(11):753-8.
9. Soltan Dallal MM, Yazdi MH, Hassan ZM, Holakuyee M, Abedi Mohtasab TP, Aminharaty F, et al. The evaluation of probiotic effect of L.acidophilus on the immune responses in BALB/C mice against transplanted tumor derived from breast tissue. *Zanjan Univ Med J* 2010;18(73):37-48.
10. Matsuoka K, Nomura K, Hoshino T. Mutagenic effects of brief exposure to bromodeoxyuridine on mouse FM3A cells. *Cell Tissue Kinet* 1990;23(5):495-503.
11. Yazdi, MH, Soltan Dallal MM, Hassan ZM, Holakuyee M, Abedi Mohtasab,TP, Agha Amiri S, Mahdavi M. The evaluation of probiotic effect of Lactobacillus casei on the Tumor growth rate in BALB/c mice bearing breast cancer. *J Med Council Islamic Rep Iran* 2009;27(1):43-51. [persian]
12. Brittenden J, Heys SD, Ross J, Eremin O. Natural killer cells and cancer. *Cancer* 1996;77(7):1226-43.
13. Chuang WL, Liu HW, Chang WY. Natural killer cell activity in patients with hepatocellular carcinoma relative to early development and tumor invasion. *Cancer* 1990;65(4):926-30.
14. Bonilla F, Alvarez-Mon M, Merino F, Girón JA, Menéndez JL, Espana P, Durántez A. Natural killer activity in patients with breast cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 1990;11(2):103-9.
15. Gati A, Guerra N, Giron-Michel J, Azzarone B, Angevin E, Moretta A, et al. Tumor cells regulate the lytic activity of tumor-specific cytotoxic t lymphocytes by modulating the inhibitory natural killer receptor function. *Cancer Res* 2001;61(8):3240-4.
16. Schiffrin EJ, Brassart D, Servin AL, Rochat F, Donnet-Hughes A. Immune modulation of blood leukocytes in humans by lactic acid bacteria: criteria for strain selection. *Am J Clin Nutr* 1997;66(2):515S-520S.
17. Sanders ME. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J Nutr* 2000;130(2S Suppl):384S-390S.
18. Ishikawa H, Akedo I, Otani T, Suzuki T, Nakamura T, Takeyama I, et al. Randomized trial of dietary fiber and Lactobacillus casei administration for prevention of colorectal tumors. *Int J Cancer* 2005;116(5):762-7.
19. 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.

Archive of SID

www.SID.ir

Tehran University Medical Journal; Vol. 70, No. 1, April 2012: 1-6

Modulatory effects of *Lactobacillus reuteri* on cellular immune parameters in mice breast adenocarcinoma

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 11:40 IRDT on Tuesday September 10th 2013

Mohammad Mehdi Soltan Dallal Ph.D.[1,2*]
Soliman Mokarrari M.Sc.[1]
Mohammad Hossein Yazdi Ph.D. Student[3]
Taraneh Paymaneh Abedi Mohtasab B.Sc.[1]
Lila Shirazi M.Sc.[1]
Mehdi Mahdavi Ph.D.[4]

1- Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2- Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Department of Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4- Department of Virology, Pasteur Institute of Tehran, Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Dept. of Microbiology, School of Public Health and Institute Health Research, Tehran University of Medical Sciences, P.O.Box: 14155-6446, Tehran, Iran.
Tel: +98-21-88992971
E-mail: soltanirad34@yahoo.com

Received: November 12, 2011 Accepted: December 21, 2011

Abstract

Background: Regarding the immunomodulatory effects of lactobacillus bacteria, this study aimed to evaluate the effect of oral administration of *Lactobacillus reuteri*, as probiotic bacteria, on natural killer cell cytotoxicity and tumor-specific lymphocyte proliferation in Balb/c mice with breast adenocarcinoma.

Methods: A total of 30 female mice, aged 6- 8 weeks and with a weight of approximately 17- 19 g, were randomly divided into two groups of 15 mice. The case group received *Lactobacillus reuteri* at a dose of 2.7×10^8 bacteria in half a milliliter of sterile phosphate buffer saline (PBS) and the control group only received PBS. The probiotic group received the regimen for two weeks prior to tumor transplantation, as they did for 30 days after transplantation with three-day intervals and durations of seven days. For the evaluation of natural killer cell cytotoxicity and also tumor-specific lymphocyte proliferation response, LDH and BrdU assays were performed respectively according to the manufacturers' instructions.

Results: The study showed that the mice in the case group which were receiving *Lactobacillus reuteri* had statistically significant differences in the replication of tumor -specific lymphocytes, natural killer cell cytotoxicity and delayed hypersensitivity responses Compared to the mice in the control group.

Conclusion: Daily consumption of probiotics seems to regulate the immune system and consequently it can be helpful in people with cancer. Moreover, consumption of probiotics in healthy individuals can also boost the efficiency of the immune system against a variety of abnormalities.

Keywords: Balb/c mouse, breast cancer, cytotoxicity, *lactobacillus reuteri*, natural killer cells, tumor-specific lymphocytes.

Archive of SID

www.SID.ir