Archive of SID

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۱۹، شماره ۳، پاییز ۸۸، صفحات ۱۸۷ تا ۱۹۲

Original Article

بررسی کاهش امکان سرطان با استفاده از چند سویه باکتری‌های پروبیوتیک در مقابل برخی از مواد کارسینوژن

صدیقه مهرابیان[۱]، احمد مجد[۲]

[۱] دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه تربیت معلم
[۲] استاد، گروه زیست شناسی تکوین سلول، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

چکیده

سابقه و هدف: *عوامل شیمیائی سرطان‌زا ممکن است توسط فعالیت میکروب‌های ساکن در دستگاه گوارش ایجاد شوند. تحقیقات انجام شده، استفاده از محصولات پروبیوتیک را در کاهش خطر سرطان پیشنهاد می‌کنند. هدف از این پژوهش بررسی اثر مهار کنندگی باکتری پروبیوتیک بر گسترش سلول‌های جهش یافته و سرطانی بود.*

روش بررسی: *در این مطالعه بنیادی، اثر ضد جهشی کشت‌های پروبیوتیک شامل بیفیدوباکتریوم بیفیدوس، بیفیدوباکتریوم لانکوم، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس، لاکتوباسیلوس رامنسوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس روی کاهش فعالیت جهشی و سرطان‌زائی دو ماده سرطان‌زای آزیدسدیم و نیتروزآمین با استفاده از سالمونلا و میکروزوم مطابق آزمایش Ames انجام شد.*

یافته‌ها: *اثر ضدجهشی و ضدسرطانی کشت‌های پروبیوتیک مشاهده شد. درصد کاهش اثر سرطان‌زائی در اغلب موارد بالای ۴۰ درصد بود که نشان دهنده‌ی اثر ضد سرطانی قوی آنها می‌باشد.*

نتیجه‌گیری: *این مطالعه نشان داد که کشت‌های پروبیوتیک اثر ضدجهشی و ضدسرطانی قوی دارند.*

واژگان کلیدی: *سرطان، پروبیوتیک، کارسینوژن، سالمونلا تیفی‌موریوم، میکروزوم.*

مقدمه

زندگی مدرن ذخایر طبیعی باکتری‌ها را در درون دستگاه گوارش کم کرده است. بعد از سال‌های متمادی که تنوع غذایی و برخورد با مواد شیمیایی موجود در غذا کم شده و نیز استفاده از آنتی‌بیوتیک و سایر داروها اصلا تعجب‌آور نیست که نوع و مقدار فلور طبیعی بدنمان تغییر کند (۱). باکتری‌های پروبیوتیک معمولا از باکتری‌های فلور طبیعی دستگاه گوارش هستند. بیفیدوباکتریوم‌ها به طور طبیعی باکتری‌های غالب کولون هستند. حدود ۲۵ درصد باکتری‌های مدفوعی بزرگسالان و ۸۰ درصد باکتری‌های مدفوعی کودکان بیفیدوباکتریوم هستند و بیفیدوباکتریوم‌ها به عنوان یک عامل پروبیوتیک برای جلوگیری و درمان وسیع الطیف گاستروانتریت و سرطان بررسی شده‌اند (۲).

مصرف خوراکی پروبیوتیک‌ها می‌تواند خاصیت ضدکارسینوژنی داشته باشد و این عمل با خنثی سازی مسمومیت ژنوتوکسین‌ها در روده صورت می‌گیرد. اثبات این مسئله در آزمایشگاه با استفاده از کارسینوژن ۱ و ۲ دی‌متیل‌هیدرازین در کولون موش نشان داده شده است. مطالعات جدید نشان داده که ترکیبات متابولیتی با طول عمر کوتاه جدا شده از شیر که توسط سویه‌هایی نظیر لاکتوباسیلوس بلگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس تخمیر شده، در غیرفعال کردن عوامل خطرزا و کارسینوژن روده بسیار موثر می‌باشند (۳). مصرف پروبیوتیک‌ها منجر به تولید طیف متفاوتی از محصولات تخمیری هم‌چون غلظت بالایی از اسیدهای چرب با زنجیر کوتاه می‌گردد.

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه تربیت معلم ، دکتر صدیقه مهرابیان
(**email**: mehrabian_s@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۹/۲۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۱/۳۱

www.SID.ir

Archive of SID

از طرفی مشاهده شده که پس از مصرف پروبیوتیک‌ها در کولون موش، آنزیم محافظت کننده گلوتاتیون ترانسفراز II القاء می‌گردد. مجموع این عوامل با هم موجب کاهش بار عوامل ژنوتوکسیک در روده و نیز باعث افزایش تولید عواملی می‌گردد که ترکیبات سمی را غیرفعال می‌سازد؛ به عنوان مثال بوتیرات یکی از این عوامل محافظتی می‌باشد که باعث کاهش خطر سرطان می‌گردد (۴).

مطالعه‌ای بر روی مدل حیوانی و آزمایشگاهی نشان داد که باکتری‌های اسیدلاکتیک موجود در شیرهای تخمیری می‌تواند اثرات مهارکننده روی گسترش زخم‌های پیش سرطانی و تومورها در مدل حیوانی داشته باشد. به علاوه، در آزمون Ames با استفاده از گونه بیفیدوباکتریوم انیمالیس اثر مهار کننده‌ای در برابر عوامل موتاژن مستقیم مانند مدل حیوانی نشان داده شد (۵).

در آزمون ایمز موتاسیون برگشتی در سالمونلاتیفی موریوم مورد بررسی قرار می‌گیرد و متداول‌ترین روش تعیین پتانسیل جهش‌زایی و سرطان‌زایی مواد شیمیایی است. در این آزمون از سویه‌های مختلف سالمونلاتیفی موریوم استفاده می‌شود که هر یک حاصل یک جهش انتخابی در اپرون هیستیدین خود می‌باشند. این جهش مانع از ساخت اسید آمینه هیستدین می‌شود، در صورتی که سویه‌های وحشی یا پروتوتروف $^{+}$(His) قادرند با استفاده از نیتروژن غیرآلی (فسفات آمونیوم) و در حضور منبع کربن مناسب (گلوکز) این اسید آمینه ضروری را بسازند (۶). طی تحقیقی که در سال ۲۰۰۳ توسط Horn و همکارانش انجام شد، مشخص گردید که سویه‌های سالمونلاتیفی موریوم مانند TA100، TA98،TA104 و نیز سویه‌های Ecoli k_{12} جهت سنجش جهش‌زایی و سرطان‌زایی برخی از مواد شیمیایی مناسب هستند. طبق تئوری ایمز، ژئوتوکسیسیته و موتاژنیسیته به عنوان شاخص‌هایی در پتانسیل سرطان‌زایی محسوب می‌شوند. بر این اساس ۸۰ درصد مواد جهش‌زا، سرطان‌زا نیز می‌باشند. خاصیت منحصر به فرد این آزمون استفاده از میکروزوم کبدی (S9) برای فعال کردن برخی مواد جهش‌زا و سرطان‌زا است. بسیاری از این ترکیبات برای بروز خصوصیات جهش‌زایی یا سرطان‌زایی باید از نظر متابولیکی (اکسیداتیو یا احیائی) فعال گردند و از آن جایی که باکتری سالمونلاتیفی موریوم قادر به انجام این فعالیت نیست، لذا یک عصاره استریل میکروزومی از بافت پستانداران مانند rat را می‌توان به آزمون جهش‌زایی اضافه نمود (۷).

هدف از این پژوهش، شناسایی اثر مهار کننده باکتری‌های پروبیوتیک روی گسترش تومورها و سلول‌های سرطانی بود.

مواد و روشها

در پژوهش بنیادی حاضر باکتری‌های مورد استفاده در آزمون Ames شامل سالمونلاتیفی موریوم TA 100 و سالمونلاتیفی موریوم TA104 بودند که مستقیما از پروفسور Ames دریافت گردیدند. این سویه‌ها دارای جهش در اپرون هیستیدین هستند. سویه‌های آزماینده دارای جهش‌های دیگری نیز هستند که توانایی آنها را برای تشخیص عوامل جهش‌زا به طور گسترده‌ای بالا می‌برد.

از انواع این جهش‌های ثانویه، موارد زیر در این تحقیق انجام شد:

۱- جهش rfa. در این آزمون از دیسک آغشته به کریستال ویوله ۰/۱ درصد و محیط کشت نوترنیت آگار استفاده شد که مدت ۱۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

۲- جهش UvrB. حساسیت پرتو UV در سویه‌های TA 100 و TA104 جهش UvrB را تایید می‌کند. در این آزمون نیمی از سطح پلیت با کاغذ آلومینیومی پوشانده شد. در فاصله ۳۳ سانتی‌متر از لامپ UV به مدت ۸ ثانیه پرتوتابی انجام گرفت که با قرار دادن درب پلیت، ۱۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

۳- پلاسمید RFA. سویه‌های TA 100 و TA104 از نظر وجود فاکتورهای مقاومت به آمپی‌سیلین مورد آزمایش قرار گرفتند. در این آزمون دیسک آمپی سیلین (۱۰۰ میکروگرمی) روی محیط نوترین آگار حاوی باکتری به مدت ۱۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد.

از آنجایی که بسیاری از ترکیبات برای بروز خصوصیات ضدجهشی و ضدسرطانی باید از نظر متابولیکی فعال شوند، افزودن یک عصاره استریل میکروزوم از بافت‌های پستانداران مانند موش الزامی است. در این تحقیق عصاره میکروزومی از هوموژنای کبد رت نر استفاده شد (وزن متوسط هر کبد حدود ۹ گرم بود).

شش نوع باکتری تولید کننده اسیدلاکتیک شامل بیفیدوباکتریوم لانگوم، بیفیدوباکتریوم بیفیدوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس، لاکتوباسیلوس رامنسوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس بصورت خالص تهیه شد. باکتری‌ها به محیط MRS برات تلقیح شدند و در شرایط بی‌هوازی در مجاورت ۵ درصد گاز دی‌اکسیدکربن و گاز پک به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند. آنها بر اساس صفات شکلی و بیوشیمیائی مانند توانائی رشد در دمای ۱۵و ۴۵ درجه سانتیگراد تولید اسید و گاز از گلوکز، تخمیر قندهای مختلف و تولید NH_3 از آرژینین بر

www.SID.ir

Archive of SID

اساس کتاب برگی مورد تایید قرار گرفتند. کلیه آزمایشات بر روی باکتری‌ها در مرحله رشد لگاریتمی صورت گرفت (۸).

جهت تهیه مایع روی کشت باکتری‌های پروبیوتیک (سوپرناتانت) و جداسازی آن، مایع روی کشت باکتری‌های پروبیوتیک (سوپرناتانت) با استفاده از فیلتر میلی‌پور ۰/۴۵ میکرون تهیه شد. پس از تعیین pH و خنثی‌سازی آن یون H202 آن نیز خنثی شد تا در مرحله بعدی تحقیق از آن استفاده شود (۹).

برای تعیین فعالیت ضدمیکروبی سویه‌های پروبیوتیک مورد استفاده، در این بررسی با استفاده از مایع روی کشت(سوپرناتانت) و روش NccLs 2000 (۱۰) فعالیت مایع روی کشت بر علیه دو سویه سالمونلاتیفی موریوم TA100 و TA104 و باکتری استافیلوکوکوس ارئوس ATCC 8043 و اشرشیاکلی ATCC 8739 و آنتی‌بیوتیک جنتامایسین با استفاده از روش انتشار و سنجش قطر هاله عدم رشد انجام شد.

آزمون ضد جهش‌زایی بر اساس آزمون سالمونلامیکروزوم شرح داده شده توسط Ames (۱۱) و نیز آزمون تغییر یافته آن در سال ۲۰۰۵ (۱۲) انجام گرفت. این آزمون با افزودن ۰/۱ میلی‌لیتر از مایع روی کشت باکتری‌های پروبیوتیک مورد آزمایش به ۰/۱ میلی‌لیتر کشت تازه شبانه سالمونلاتیفی موریوم TA 100 و TA104 بطور جداگانه، و نیز ۰/۱ میلی‌لیتر از مواد جهش‌زای مورد آزمایش شامل آزیدسدیم و نیتروزآمین و میزان این مواد (۱/۵) میکروگرم در هر پلیت، مواد جهش‌زا به طور جداگانه به لوله محتوی ۳ میلی‌لیتر تاپ آگار افزوده شد. به منظور انجام چرخه تقسیم سلولی، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۰/۵ میلی‌مولار هیستیدین و بیوتین نیز به هر لوله اضافه شد. محتویات لوله پس از ۳ دقیقه تکان‌دهی با شیکر به‌طور یکنواخت در سطح محیط گلوکز آگار حداقل گسترده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در این آزمون شاهد مثبت که حاوی ماده جهش‌زا و شاهد منفی که آب مقطر بود نیز در نظر گرفته شد. در هر آزمون از سه پلیت هم‌زمان استفاده شد تا آزمون ۳ بار تکرار شود. بعد از پایان دوره گرمخانه‌گذاری تعداد کلنی‌های برگشتی در نمونه شاهد مثبت و منفی و نمونه دارای ماده ضد جهشی بررسی شد.

در آزمون تعیین قدرت ضد سرطان‌زایی، علاوه بر افزودن موادی که در بالا ذکر شد، به هر یک از لوله شاهد مثبت و منفی و لوله حاوی ماده ضد جهش مخلوط S9 تهیه شده که بلافاصله از فریزر خارج شده و در دمای اطاق ذوب شده بود، به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر به لوله‌های تاپ آگار اضافه شد و بقیه مراحل و شاهدهای مثبت و منفی مانند روش تعیین ضد جهش‌زایی انجام گرفت.

محاسبه درصد بازدارندگی مطابق فرمولی که توسط ONG و همکارانش در سال ۱۹۸۶ ارائه گردید (۱۳)، انجام گرفت:

درصد بازدارندگی =[(A-B)/A]x100

در این فرمول B تعداد کلنی برگشتی در هر پلیت در حضور ماده جهش‌زا و نمونه مورد آزمایش و A تعداد کلنی برگشتی در هر پلیت در حضور کنترل مثبت است. در این فرمول تعداد کلنی موجود در پلیت کنترل منفی از صورت و مخرج کسر باید کم شود. زمانی که درصد بازدارندگی بین ۲۵ الی ۴۰ درصد باشد، اثر جهش زایی متوسط و در صورتی که بالای ۴۰ درصد باشد این اثر قوی می‌باشد. درصد بازدارندگی کمتر از ۲۵ منفی است.

تعداد کلنی برگشتی در هر سویه آزماینده با در نظر گرفتن شاهد و مثبت در مورد مایع روی کشت باکتری‌های پروبیوتیک اندازه‌گیری شد. ابتدا بین دو عامل جهش‌زا یعنی آزید سدیم و نیتروزامین مقایسه کلی انجام گرفت. سپس با استفاده از آزمون آماری لون و با کمک آزمون HSD تحلیل آماری صورت گرفت.

یافته‌ها

تایید ژنوتیپ سویه‌های آزماینده سالمونلاتیفی موریوم TA 100 و TA104 در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپی سویه های آزماینده تیفی موریوم

	جهش rfa	جهش UvrB	پلاسمید R- Factor
سالمونلاتیفی موریوم TA100	+	+	+
سالمونلاتیفی موریوم TA104	+	+	+

سویه‌های جهش یافته به علت فقدان نسبی سد لیپوپلی‌ساکارید در پوشش سطح باکتری کریستال ویوله بداخل دیواره نفوذ کرده و باعث مرگ باکتری شد و هاله حدود ۱۴ میلی‌متر را تشکیل داد. مقاومت به آمپی‌سیلین در هر دو سویه بعلت وجود پلاسمید R-Factor در آنها مشاهده شد. عدم رشد در ناحیه پرتودیده مشاهده گردید که نشان دهنده جهش UvrB می‌باشد. این سویه‌ها بیماریزا نیستند و توسط مهندسین ژنتیک در سراسر جهان استفاده می‌شوند. آنها علاوه بر جهش نسبت به هیستیدین، دارای جهش‌های دیگری بوده که توانایی آنها را برای تشخیص عوامل جهش‌زا بطور گسترده‌ای بالا می‌برد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲. اثر ضد باکتریائی مایع روی حاصل از کشت ۶ گونه از باکتریهای پروبیوتیک

	استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 8739	اشرشیاکلی ATCC 8739	سالمونلاتیفی موریوم TA100	سالمونلاتیفی موریوم TA104
بیفیدوباکتریوم لانگوم	۱۰/۵	۷/۶	-*	-
بیفیدوباکتریوم بیفیدوس	۹/۵	۸	-	-
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۹/۵	۷/۲	-	-
لاکتوباسیلوس بولگاریکوس	۹	۷/۸	-	-
لاکتوباسیلوس رامنسوس	۸/۴	۸	-	-
استرپتوکوکوس ترموفیلوس	۸	۶/۸	-	-

*خانه‌هایی که خط کشیده شده‌اند به معنای عدم ایجاد هاله رشد توسط مایع رویی کشت است

جدول ۳- اثر ضد جهش زائی مایع رویی حاصل از کشت ۶ گونه باکتری پروبیوتیک در مقابل نیتروزآمین، سالمونلاتیفی موریوم و میکروزوم

	سالمونلاتیفی موریوم TA104				سالمونلاتیفی موریوم TA100			
	S9 –		S9 +		S9 –		S9 +	
	کلنی برگشتی	درصد بازدارندگی	کلنی برگشتی	درصد بازدارندگی	کلنی برگشتی	درصد بازدارندگی	کلنی برگشتی	درصد بازدارندگی
کن مثبت نیتروزآمین	۴۹۸	-	۶۹۹	-	۳۷۸	-	۵۱۰	-
کنترل منفی آب مقطر	۳۲	-	۴۸	-	۳۵	-	۳۷	-
بیفیدوباکتریوم لانکوم	۱۸۵	۶۳	۲۴۰	۶۶	۱۵۹	۵۸	۱۸۸	۶۳
بیفیدوباکتریوم بیفیدوس	۲۰۹	۵۸	۲۸۷	۵۹	۱۹۸	۴۸	۲۱۰	۵۹
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۲۱۰	۵۸	۲۹۵	۵۸	۱۸۴	۵۱	۲۶۷	۴۸
لاکتوباسیلوس بولگاریکوس	۲۱۲	۵۷	۲۹۹	۵۷	۲۱۴	۴۳	۲۲۶	۵۶
لاکتوباسیلوس رامنسوس	۲۵۸	۴۸	۳۴۹	۵۰	۲۱۵	۴۳	۲۹۶	۴۲
استربتوکوکوس ترموفیلوس	۲۹۲	۴۱	۳۹۵	۴۳	۲۳۸	۳۷	۲۹۸	۴۲

مایع رویی کشت باکتری‌های پروبیوتیک برای اشرشیاکلی ATCC 8739 و استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 8043 سمی دارد، ولی همین غلظت برای باکتری‌های سالمونلاتیفی موریوم TA 100 و TA104 اثر سمی ندارد؛ لذا از همین غلظت برای بررسی خواص ضد جهش‌زایی استفاده شد. هاله‌های عدم رشد در اثر مجاورت مایع رویی حاصل از کشت با روش انتشار بین ۱۰/۵ – ۶/۸ میلی‌متر بود. (جدول ۲).

اثر ضد جهش‌زایی در حضور مواد جهش زای آزید سدیم و نیتروزآمین با استفاده از سالمونلاتیفی موریوم TA100 و TA104 در حضور نمونه‌های مورد آزمایش به صورت ممانعت ۱۰۰ درصد یا صفر درصد در جدول ۳ و ۴ نشان داده شده است.

در جدول ۳ و ۴ درصد بازدارندگی دو گونه بیفیدوباکتریوم و سه گونه لاکتوباسیلوس بالاتر از ۴۰ و اثر ضد جهشی قوی را نشان دادند، اما در مورد استرپتوکوکوس ترموفیلوس نسبت به ماده جهش‌زای آزید سدیم متوسط بود. بطور کلی نیتروزامین اثر جهش‌زایی قویتری را از آزید سدیم نشان داد. نتایج آزمون ضد سرطانی با وجود میکروزوم کبد موش S9 در جدول ۳و ۴ نشان داده شده است.

درصد بازدارندگی با وجود S9 نیز بالای ۴۰ و قوی بود، در نتیجه این باکتری‌ها اثر ضد سرطانی نیز داشتند. جواب آزمون در مقابل هر دو باکتری TA100 و TA104 یکسان بود. اثرات ضدجهشی و ضدسرطانی باکتری‌های پروبیوتیک در هر دو آزمایش تایید می‌شود. متوسط تعداد کلنی برگشتی در هر پامیت در ارتباط با موتاژن اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- مقایسه اثر ضد جهش زائی مایع روی حاصل از کشت ۶ گونه باکتری پروبیوتیک در مقابل آزیدسدیم، سالمونلاتیفی موریوم و میکروزوم

	سالمونلاتیفی موریوم TA104				سالمونلاتیفی موریوم TA100			
	$S9^-$		$S9^+$		$S9^-$		$S9^+$	
	تعداد کلنی برگشتی	درصد بازدارندگی	تعداد کلنی برگشتی	درصد بازدارندگی	تعدادکلنی برگشتی	درصد بازدارندگی	تعدادکلنی برگشتی	درصد بازدارندگی
کنترل مثبت از یدسدیم	۴۹۸	-	۶۹۹	-	۳۷۸	-	۵۱۰	-
کنترل منفی آب مقطر	۳۲	-	۴۸	-	۳۵	-	۳۷	-
بیفیدوباکتریوم لانکوم	۱۸۵	۶۳	۱۴۰	۶۶	۱۵۷	۵۸	۱۸۵	۶۳
بیفیدوباکتریوم بیفیدوس	۲۱۲	۵۷	۲۹۹	۵۷	۲۱۴	۴۳	۲۲۸	۵۶
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۲۱۰	۵۸	۲۹۵	۵۸	۱۸۴	۵۱	۲۶۷	۴۳
لاکتوباسیلوس بولگاریکوس	۲۸۵	۴۸	۳۴۹	۵۰	۲۱۵	۴۳	۲۹۷	۴۳
لاکتوباسیلوس رامنسوس	۲۹۲	۴۱	۳۹۵	۴۳	۲۳۸	۳۷	۲۹۸	۴۲
استربتوکوکوس ترموفیلوس	۳۵۷	۲۸	۵۰۱	۲۸	۳۱۰	۲۸	۳۷۰	۳۷

بحث

اکثر سویه‌های آزماینده گالاکتوز منفی بودند؛ بنابراین به علت فقدان اپرون گالاکتوز دخیل در سنتز لیپوپلی‌ساکارید سطح باکتری در بیماریزایی نقص داشتند. جهش rfa باعث کاهش نسبی حاصل‌های لیپوپلی‌ساکاریدی می‌شود که سطح باکتری را می‌پوشاند و قابلیت نفوذ مولکول‌های بزرگی مثل benzo (a) pyrene را افزایش می‌دهد. این مولکول به طور معمول نمی‌تواند وارد سلول شود. در مورد دو سویه مورد استفاده این فاکتور تایید شد. فقدان ژن کد کننده سیستم ترمیمی (Excision repair) منجر به افزایش حساسیت در شناخت بسیاری از عوامل سرطان‌زا می‌شود و به دنبال حذف این ژن، سویه‌های حساس در برابر اشعه ماوراء بنفش ایجاد می‌شوند. به دلیل تکنیکی برش و حذف روی داده ژن UvrB در ژن بیوسنتز بیوتین هم گسترش یافته و در نتیجه این باکتری‌ها برای رشد به بیوتین نیاز دارند. دو سویه مورد استفاده در این تحقیق نیز دارای این ویژگی می‌باشند. در ضمن سویه‌های آزماینده TA100 و TA98،TA104، TA97، TA102 دارای پلاسمید PKM101 بوده که حاوی R Factor می‌باشد. با سویه‌های حاوی پلاسمید می‌توان مواد سرطان‌زای بسیار ضعیفی را نیز شناسائی نمود که با سویه‌های فاقد این فاکتور قابل شناسائی نمی‌باشند. دو سویه مورد استفاده در این تحقیق نیز دارای فاکتور مقاومت بودند (۷).

تحقیقات نشان داده که لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها هر دو فلور طبیعی روده سالم هستند. با اینکه هر دو چه در روده کوچک و چه در روده بزرگ بزرگسالان فلور غالب نیستند، ولی حضورشان با سلامتی روده در ارتباط است. پروبیوتیک‌ها اثر ضدباکتریایی دارند و می‌توانند در جلوگیری اسهال ناشی از آنتی‌بیوتیک نقش مهمی را ایفا کنند، ولی تاثیر چندانی در درمان سایر اسهال‌های به وجود آمده ندارند. البته همه مطالعات نتایج مثبتی در جلوگیری از اسهال ناشی از آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان نداده‌اند (۱۴).

در این بررسی ما از دو ماده موتاژن شناخته شده آزید سدیم و نیتروزآمین استفاده نمودیم. شناسایی مواد یا عواملی که توانایی القاء جهش را دارند و نیز عواملی که می‌توانند از این جهش جلوگیری کنند، نقش مهمی را در حفظ سلامت افراد بازی می‌کنند (۱۵). در این میان بدیهی است که دسترسی به روشی ارزان، سریع و آسان جهت شناسایی مواد ضد سرطانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به همین جهت ما از آزمون Ames و میکروزوم کبد موش استفاده نمودیم. تاکنون بیش از ۵۰۰۰ ماده شیمیایی با استفاده از این آزمون مورد بررسی قرار گرفته‌اند. این آزمون برای تعیین جهش‌زایی و ضد جهش‌زایی مخلوط‌های بیولوژیکی و محیطی پیچیده نیز به کار می‌رود. تعداد قابل توجهی از عوامل شیمیایی که با این روش جهش‌زایی به اثبات رسیده، امروزه از گروه ترکیبات سرطان‌زا محسوب می‌شوند (۱۶). در پژوهش حاضر درصد بازدارندگی باکتری‌های پروبیوتیک مورد آزمایش از ۴۰ به بالا و قوی بود که با تحقیقات دانشمندان مبنی بر اینکه مصرف باکتری‌های پروبیوتیک یا عصاره این باکتری‌ها و یا ترکیباتی از آنها موجب کاهش سرطان کولون و کاهش ظهور تومورها می‌شود، مطابقت دارد. بررسی‌های آزمایشگاهی نشان داده که اجزای دیواره سلولی باکتری‌های پروبیوتیک با مواد موتاژن ترکیب شده و از شدت سرطان‌زایی آن‌ها می‌کاهد (۱۷).

www.SID.ir

Archive of SID

مصرف محصولات تخمیری حاوی باکتری‌های پروبیوتیک در کاهش فعالیت آنزیم‌های دفعی مانند گلوکورونیداز، ازوردوکتاز، نیتروردوکتاز و ۷هیدروژناز که نقش اصلی در سرطان کولون در انسان و حیوان را دارند و همچنین تجزیه نیتروزآمین که از عوامل موتاژن می‌باشند، موثر دانست.

تشکر و قدردانی

با تشکر از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تربیت معلم که بودجه این کار تحقیقی را در اختیار اینجانب قرار دادند.

REFERENCES

1. Kruis W. Antibiotics and probiotics in inflammatory bowel disease. Aliment pharmacol Ther 2004; 4:75-78.
2. Picard C, Floramonti J. Bifidobacteria as probiotic agents- physiological effects and clinical benefits. Aliment pharmacol Ther 2005; 22:495-512.
3. Wollowski I, Rechkemmer G, Beatrice L, Pool Z. Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. Am J Clin Nutr 2001; 73:4515 -55
4. Abrahamse SL, Pool-Zobel BL, Rechkemmer G. Potential of short chain fatty acids to modulate the induction of DNA damage and changes in the intracellular calcium calcium concentration in isolated rat colon of rats. Eur J Nutr 1999; 38:76-83.
5. Brady LJ, Callader DD, Busta FF. The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. J Natr 2000; 130:410-14.
6. Mortelmans K, Zeiger E. The Ames salmonella / micrisime mutagenicty assay. Mutat Res 2000; 455:29-60.
7. Horn R, Vargas VMF. Antimutagenic activity of extracts of natural substances in the salmonella / microsome assay. Mutagenesis 2003; 18:113-18.
8. Parvathy NS, Surendran PK. Biochemical characterization of Lactic acid. Bacteria isolated from fish and prawn. Journal of Culture Collections 2005; 4:48-52.
9. Navght MC, MacFie CEJ. Probiotic in clinical practice a clinical review of the evidence. Nutr Res 2006; 21:343-53.
10. NCCLS. 2000. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard, 7th ed. NCCLS document M2-A7. NCCLS, Wayne, Pa.
11. Sarhan MAA. Mutagenic activity of N-butyl and N-Hexyl Azide in the Salmonella mutagenicity test (Ames test). J Appl Sci Res 2007; 4:886-89.
12. Gomes-cameiro MR, Daniela MMD. Evaluation of mutagenic and antimutagenic activities of alpha bisabolol in the salmonella / microsome assay. Mutat Res 2005; 585:105-12.
13. Ong T, Wong W, Stwart JD. Chlorophyllin a potent antimutagen against environmental and dietary complex mixture. Nutr Res 1986;173:111-15
14. Shah N P. Symposium probiotic bacteria. Probiotic bacteria selective enumeration and survival in dairy foods. J Dairy Sci 2000;88:894-907.
15. Rafter J. Probiotic and colon cancer. Best pract Res Clin Gasteroentrol 2003;17:849-59.
16. Shon MY, Park SKA. Anticancer and Antimutagenic activities after simulated digestion of ethanol extracts from white, red and yellow onions. J Food Sci Nutr 2006;11:278-84.
17. Gahyva SM,Siqueira JF. Pirect genotoxicity and mutagenicity of endodontic substances and materials as evaluated by two Prokaryotic test systems. J Appl Oral Sci 2005;4:387-92.

www.SID.ir