مجله پیاورد سلامت
دوره ۱٤، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۹، ٤۸۳-٤۷۶
مقاله پژوهشی

القای آپوپتوز در رده سلولی آدنوکارسینومای کولورکتال انسان و مهار رشد برخی پاتوژن‌های گوارشی با استفاده از متابولیت‌های *لاکتوباسیلوس ساکئی*

محمدصابر ملکی[۱]، لیلا روحی[۲*]، خلیل خاشعی ورنامخواستی[۳]

دریافت مقاله : آبان ۱۳۹۹
پذیرش مقاله : دی ۱۳۹۹

* نویسنده مسئول :
لیلا روحی؛
دانشکده علوم پایه واحد شهرکرد دانشگاه آزاد اسلامی
Email :
lrouhi59@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: لاکتوباسیل‌ها از مهم‌ترین جنس‌های باکتری‌های اسید لاکتیک محسوب می‌شوند و استفاده از بعضی گونه‌های آن با توان پروبیوتیک می‌تواند در جلوگیری از رشد بعضی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و کنترل بیماری‌ها و سرطان‌های گوارشی موثر باشد. در مطالعه‌ی حاضر اثرات پروآپوپتوزی و ضدباکتریایی لاکتوباسیلوس ساکئی بر رده سلولی آدنوکارسینومای کولورکتال انسان و برخی پاتوژن‌های گوارشی بررسی گردید.

روش بررسی: در تحقیق حاضر، اثر ضدباکتریایی متابولیت‌های کشت باکتری‌های لاکتوباسیلوس ساکئی علیه باکتری‌های بیماری‌زای گوارشی به کمک روش چاهک بررسی گردید و قطر هاله عدم‌رشد ایجاد شده توسط ساکئی علیه هریک از باکتری‌های بیماری‌زا، اندازه‌گیری شد. با کشت رده سلولی (HT-29) در محیط کشت DMEM محتوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و تیمار سلول‌ها در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر از متابولیت‌های ساکئی و انکوبه شدن در زمان ۲٤ و ٤۸ ساعت، میزان القای آپوپتوز با استفاده از کیت آنکسین-پروپیدیوم یدید (Annexin-PI) طبق دستورالعمل کیت در هر دو زمان انکوباسیون مورد بررسی قرار گرفت. به منظور کاهش خطا، آزمون‌ها با سه بار تکرار انجام گرفت.

یافته ها: نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از آن است که ساکئی قادر به تولید متابولیت‌های مقابله‌کننده با باکتری‌های بیماری‌زای گوارشی می‌باشد. نتایج تست انکسین نیز نشان داد که با افزایش غلظت متابولیت‌ها، القای آپوپتوز در این رده‌ی سلولی (HT-29) به‌صورت وابسته به دوز افزایش می‌یابد($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد که زمینه‌ی تحقیقاتی مناسبی برای بهره‌برداری از ترکیبات فعال زیستی تولیدشده توسط لاکتوباسیلوس ساکئی در کنترل و مقابله با باکتری‌های بیماری‌زای گوارشی و درمان آدنوکارسینومای کولورکتال وجود داشته باشد.

واژه های کلیدی: لاکتوباسیلوس ساکئی، آدنوکارسینومای کولورکتال، پاتوژن‌های گوارشی، اثر پروآپوپتوزی، اثر ضدمیکروبی

۱ کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲ استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۳ مربی گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

مقدمه

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ی غیربیماری‌زایی با ویژگی‌هایی همچون مقاوم به آنزیم‌های هضم‌کننده، توانا در تحریک پاسخ‌های ایمنی و موثر بر فعالیت‌های متابولیکی روده هستند که با حفظ یا بهبود تعادل میکروبی روده می‌توانند سلامت را برای میزبان خود به ارمغان آورند. از میان میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، باکتری‌های اسید لاکتیک به‌ویژه جنس لاکتوباسیلوس به‌عنوان متداول‌ترین ارگانیسم در تولید محصولات پروبیوتیکی شناخته و معرفی شده است(۲و۱). پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس دارای خصوصیاتی چون تحمل اسید و املاح صفراوی، تولید اسیدهای ارگانیک، ترکیبات ضدمیکروبی و تجمع‌پذیری سلولی با باکتری‌های بیماری‌زا و ممانعت از اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به سطوح دستگاه گوارش می‌باشند(۳). این باکتری‌های پروبیوتیک قادرند سویه‌های بیماری‌زا را به دام انداخته و با آن‌ها تجمع یابند؛ بدین‌ترتیب فعالیت باکتری‌های بیماری‌زا متوقف و عملکردشان مهار می‌شود(٤). لاکتوباسیلوس‌ها با این اقدام نیز از آسیب‌های DNA ناشی از میکروب‌ها، که ارتباط زیادی با وقوع سرطان‌های روده‌ای دارند، جلوگیری می‌کنند، چرا که گزارش شده است که باکتری‌های پاتوژن ساکن در روده با تولید موادی نظیر پراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل، به DNA سلول‌های اپیتلیال روده آسیب رسانده و باعث تشکیل تومور می‌شوند(۵). به‌علاوه آنها با مکانیسم‌هایی از جمله افزایش سطح سیتوکاین‌ها و ایمونوگلوبولین‌ها، افزایش تکثیر سلول‌های مونونوکلئاز و فعال کردن ماکروفاژها، بدون ایجاد پاسخ التهابی، سیستم ایمنی را در برابر سلول‌های سرطانی آدنوکارسینومای کولورکتال، که دومین سرطان شایع در زنان پس از سرطان پستان و سومین سرطان شایع در مردان پس از سرطان پروستات و ریه است، تحریک می‌کنند(۷و٦). در این میان القای آپوپتوز، دیگر مکانیسمی است که هم اکنون شواهد زیادی مبنی بر توانایی پروبیوتیک‌ها در تنظیم آن وجود دارد؛ که از جمله‌ی آن می‌توان به باکتری *لاکتوباسیلوس روتری* اشاره کرد که قادر است تکثیر سلولی را در سلول‌های سرطانی میلوما از طریق پیشبرد آپوپتوز و افزایش بیان پروتئین‌های کینازی پیش آپوپتوزی کاهش دهد(۸). تحقیقات گذشته و در حال انجام بر روی متابولیت‌های تولید شده توسط باکتری‌های پروبیوتیکی همگی حکایت از توانایی آنها در درمان و کنترل بیماری‌های میکروبی و سرطان‌ها دارد؛ برای مثال اثرات ضدمیکروبی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، علیه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیاکلی* و *باسیلوس سوبتلیس* نشان داده شده است(۹) یا بررسی اثر پروبیوتیکی بیفیدوباکتریوم بر روی سلول های سرطانی cacoII (رده سلولی سرطان روده بزرگ) نشان داد که مایع رویی کشت بیفیدوباکتریوم روی این سلول‌های سرطانی اثر مهاری دارد(۱۰). ازاین‌رو به‌نظر می‌رسد حمایت از تاثیرات مثبت پروبیوتیک‌ها بر سلامت انسان مستلزم ارایه شواهد آزمایشگاهی هر چه بیشتر باشد. در این راستا، در مطالعه‌ی حاضر اثرات پروآپوپتوزی و ضدباکتریایی *لاکتوباسیلوس* ساکئی بر رده سلولی آدنوکارسینومای کولورکتال انسان و برخی پاتوژن‌های گوارشی شامل یرسینیا انتروکولیتیکا، سالمونلا انتریکاانتریتیدیس شیگلا فلکسنری و شیگلا سونئی به‌دنبال افزایش عوارض بیماری‌های میکروبی و سرطانی گوارشی و ایجاد مقاومت به درمان‌های مرسوم، با روش جدید مبتنی بر متابولیت‌های میکروبی، بررسی گردید.

روش بررسی

این مطالعه‌ی پژوهشی به‌صورت تجربی از اردیبهشت ۱۳۹۷ تا شهریور ۱۳۹۷ در مرکز تحقیقات سلولی-تکوینی و مرکز تحقیقات باکتری‌شناسی مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و آزمایشگاه مرکزی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. باکتری مورد نظر تحقیق یعنی *لاکتوباسیلوس* ساکئی از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران خریداری گردید.

● کشت میکروبی و سلول سرطانی

به‌منظور جداسازی متابولیت ضدمیکروبی تولیدی از کشت ۲٤ ساعته‌ی باکتری در محیط TSB استفاده و کشت‌ها در دور ۱۲۰۰۰g به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند، سپس سلول‌ها از سوپرناتانت جداسازی شد و از سوپرناتانت سلول‌ها جهت بررسی فعالیت ضدمیکروبی و ضدسرطانی استفاده گردید. با استفاده از پیپت پاستور استریل، چاهک‌هایی(به قطر ۵ mm) بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار ایجاد شد. به دنبال آن هرکدام از باکتری‌ها شامل *یرسینیا انتروکولیتیکا*(PTCC۱۱۵۱)، *سالمونلا انتریکاانتریتیدیس*(PTCC۱۷۰۹)، *شیگلا فلکسنری*(PTCC۱۲۳٤) و *شیگلا سونئی*(ATCC۹۲۹۰)، به ۳ ml محیط کشت NB Broth اضافه شدند

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

تا کدورتی معادل کدورت لوله‌ی ۰/۵ مک فارلند به‌دست آید، سپس بر روی محیط کشت جامد مولر هینتون آگار به وسیله‌ی سوآپ استریل و به‌صورت سفره‌ای کشت داده شدند. در ادامه به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر از سوپرناتانت باکتری *لاکتوباسیلوس* ساکئی به چاهک‌ها اضافه و در نهایت پلیت‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ °C انکوبه شدند. پس از گذشت ۲٤ ساعت، قطر هاله‌ی عدم رشد علیه باکتری‌ها و بود یا نبود فعالیت ضدمیکروبی با استفاده از خط‌کش میلیمتری اندازه‌گیری شد. نمونه‌هایی را که دارای هاله‌ی عدم رشد بودند درون لوله فالکون ۱۵ ml ریخته، درون سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد تا سوپرناتانت باکتری *لاکتوباسیلوس* ساکئی از خود باکتری جدا شود. سپس مقدار ۲ ml از سوپرناتانت را درون ویال‌های لیوفیلیزه ریخته، و درون فریزر ۲۰- قرار داده و پس از مدت ۲٤ ساعت ویال‌ها درون دستگاه فریز درایر، قرار داده شد و سوپرناتانت ابتدا فریز و سپس خشک گردید و در نهایت نمونه‌ها تا زمان استفاده در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند. رده‌ی سلولی HT-۲۹ از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران خریداری شد. در محیط کشت DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's medium) (Gibco, USA) حاوی ۱۰ درصد FBS (Foetal Bovine Serum) (Gibco, USA) و یک درصد Penstrep (Penicillin-Streptomycin) (Gibco, USA) در انکوباتور (Memmert, Germany) با فشار ۵ درصد گاز CO۲، رطوبت ۹۰ درصد و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، در فلاسک ۷۵ کشت داده شد. محیط کشت هفته‌ای سه بار تعویض و برای برداشت‌کردن سلول‌ها از محلول تریپسین/ EDTA استفاده شد.

● روش فلوسیتومتری

القای آپوپتوز در رده سلولی HT-۲۹، از طریق تست Annexin V-FITC/PI، با استفاده از کیت FITC Annexin V Apoptosis Detection kit (BD Pharmingen, USA)، با شماره محصول(۵۵٦٥٤۷)، ارزیابی گردید. از غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر(۱۱) متابولیت ساکئی در بازه‌های زمانی ۲٤ و ٤۸ ساعت جهت بررسی آپوپتوز استفاده شد. سلول‌ها را پس از شستشو با PBS و آنزیم تریپسین (Gibco، آمریکا) از پلیت جدا نموده و سانتریفوژ شدند. رنگ‌های Annexin-V متصل به FITC و PI(BD Pharmingen) به میزان ۵ میکرولیتر به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و محیط تاریک انکوبه شدند و آماده‌ی شمارش توسط دستگاه فلوسایتومتری (FACS Calibur، آمریکا)؛ شمارش سلولی در واحد 10^4 صورت گرفت.

● آنالیز آماری

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS، نرم‌افزار FlowJo و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و تست دانکن (Duncan) تجزیه‌وتحلیل شدند. در تمام بررسی‌ها سطح معنی‌داری آزمون‌ها P<۰/۰۵ بود.

یافته‌ها

نتایج به‌دست آمده براساس روش Well diffusion assay، نشان‌دهنده‌ی اثر مهاری مناسب متابولیت‌های لاکتوباسیلوس ساکئی بر باکتری‌های بیماری‌زای گوارشی می‌باشد(جدول ۱). طی این روش بیشترین اثر مهاری با مهار ۱۳/۲۰ میلی‌متر بر علیه یرسینیا انتروکولیتیکا و کمترین میزان مهارکنندگی با مهار ۱۱ میلی‌متر بر علیه شیگلا سونئی صورت گرفت. اثر مهاری برای سایر عوامل بیماری‌زای باکتریایی با میانگین ۱۲-۱۱ میلی‌متر گزارش شد.

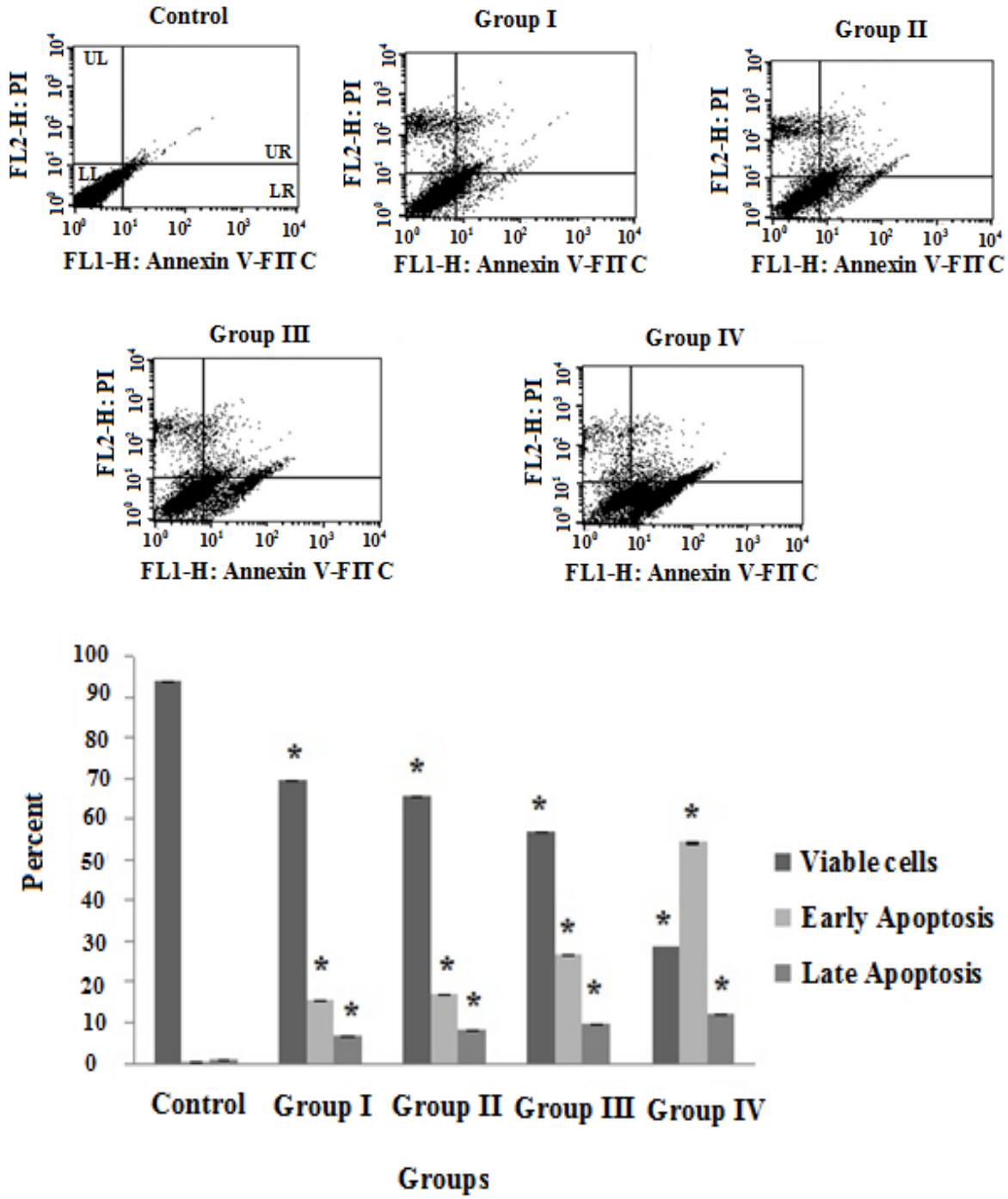
جدول ۱: میزان مهار کنندگی متابولیت‌های تولید شده توسط لاکتوباسیلوس ساکئی در مهار باکتری‌های بیماری‌زای گوارشی بر حسب میلی‌متر((روش چاهک)

سویه‌های میکروبی	قطر هاله ممانعت‌کننده‌ی رشد متابولیت‌های تولیدی(بر حسب میلی‌متر)
یرسینیا انتروکولیتیکا	۱۳/۲۰
سالمونلا انتریکاانتریتیدیس	۱۳/۱۱
شیگلا فلکسنری	۱۲/۱۸
شیگلا سونئی	۱۱

به‌منظور بررسی میزان القای آپوپتوز، تاثیر غلظت‌های مختلف متابولیت‌های لاکتوباسیلوس ساکئی بر میزان القای آپوپتوز در رده سلولی HT-۲۹ به‌ترتیب ۲٤ و ٤۸ ساعت پس از تیمار اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از این تست خبر از افزایش درصد مرگ سلولی به‌صورت وابسته به دوز در

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

گروه‌های آزمایشی تیمار می‌دهد. همان‌طورکه در شکل ۱ و ۲ دیده می‌شود، درصد سلول‌های زنده در سایر گروه‌ها در هر دو زمان انکوباسیون نسبت به گروه کنترل کاهش را نشان می‌دهد که این اختلاف از نظر آماری نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است($P\leq ۰/۰۳۲$). همچنین درصد سلول‌هایی که در مرحله‌ی ابتدایی و انتهایی آپوپتوز هستند با افزایش غلظت متابولیت افزایش یافته‌اند، که این افزایش درصد آپوپتوز نسبت به گروه کنترل در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت معنی‌دار می‌باشد(شکل ۱و۲).

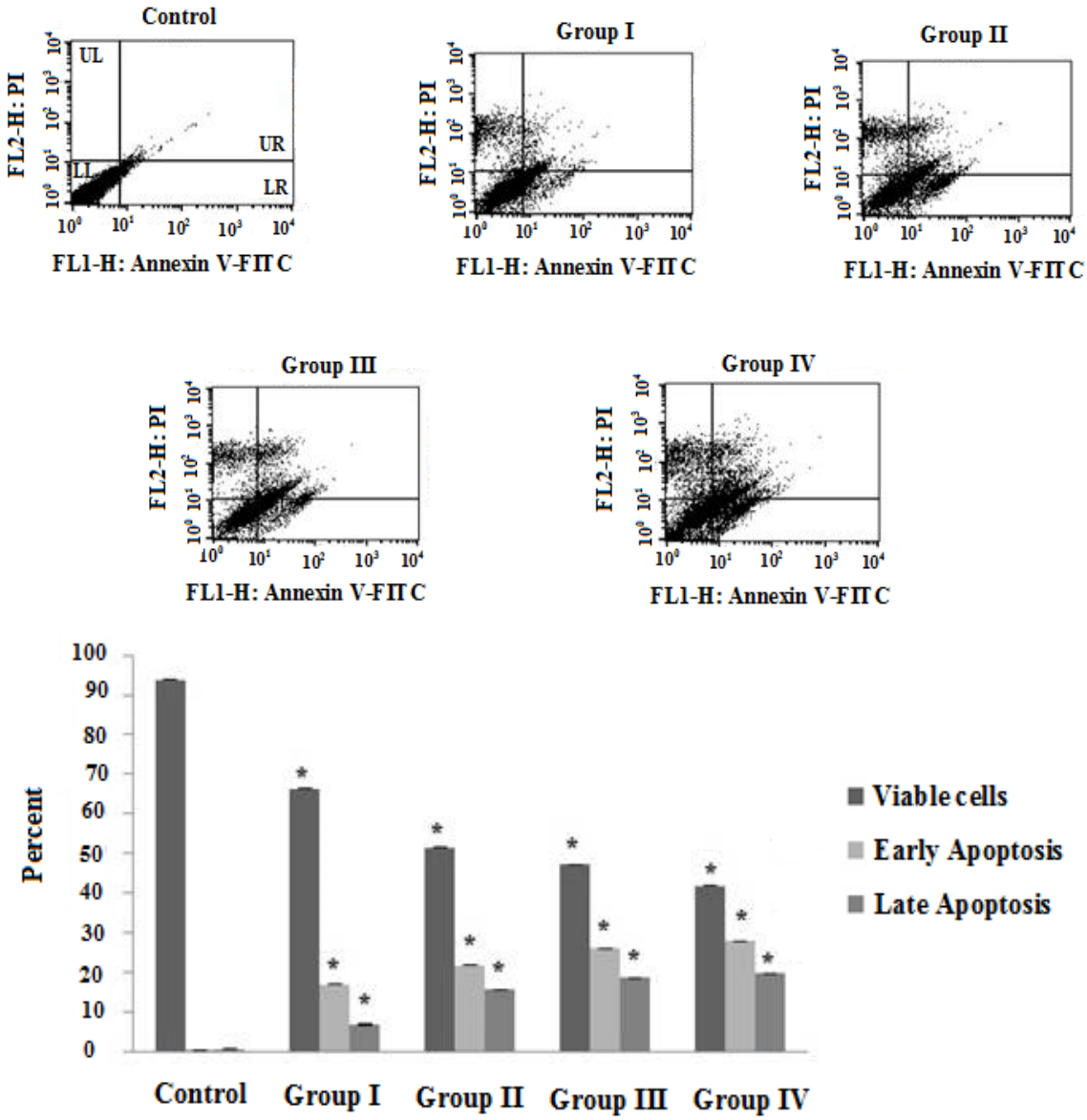


شکل ۱: درصد سلول‌های زنده، آپوپتوز اولیه و آپوپتوز انتهایی در سلول‌های HT-۲۹ تحت تیمار با غلظت‌های مختلف متابولیت‌های لاکتوباسیلوس ساکئی ۵(گروه I)، ۱۰(گروه II)، ۱۵(گروه III) و ۲۰(گروه IV) میلی‌گرم/میلی‌لیتر) به‌مدت ۲۴ ساعت $P<۰/۰۰۱۴۹$* در مقابل گروه کنترل.

داده‌ها به‌صورت mean±sd نمایش داده شده‌اند.

علامت(*) نشان‌دهنده‌ی معنی‌دار بودن در سطح $P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل است.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]



شکل ۲: درصد سلول‌های زنده، آپوپتوز اولیه و آپوپتوز انتهایی در سلول‌های HT-۲۹ تیمار با غلظت‌های مختلف متابولیت‌های لاکتوباسیلوس ساکئی ساکئی ۵(گروه I)، ۱۰(گروه II) ، ۱۵(گروه III) و ۲۰(گروه IV) میلی‌گرم/میلی‌لیتر) به‌مدت ۴۸ ساعت P<۰/۰۰۶۱* در مقابل گروه کنترل.

داده‌ها به‌صورت mean±sd نمایش داده شده‌اند.

علامت(*) نشان‌دهنده‌ی معنی‌دار بودن در سطح P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل است.

بحث

با توجه به فراوانی بیماری‌های گوارشی در دنیا و افزایش روزافزون مقاومت دارویی، شناسایی و بررسی روش‌های درمانی جدید، جهت پیشگیری و درمان این بیماری‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که تاثیرات مفیدی مانند بهبود سیستم ایمنی، جلوگیری از استقرار و رشد باکتری‌های بیماری‌زا، کاهش جذب کلسترول و کاهش احتمال ابتلا به سرطان کلورکتال دارند. امروزه بررسی‌های زیادی برای ارزیابی تاثیر این باکتری‌ها بر سلامت مصرف‌کننده صورت گرفته است. در این راستا مشخص شده است که متابولیت‌های حاصل از کشت *لاکتوباسیلوس‌ها* به‌عنوان یکی از مهم‌ترین باکتری‌های اسیدلاکتیک و عمده‌ترین باکتری با توان پروبیوتیکی، می‌توانند به‌عنوان ترکیب ضدمیکروبی و ضدسرطانی کاربرد غذایی و دارویی فراوان داشته باشند(۱۳و۱۲). به‌عنوان مثال در سال ۲۰۰۵ اثر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی *سودموناس آئروژینوزا* موردبررسی قرارگرفت. نتایج حاصل از بررسی اثر مهاری رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی *سودموناس آئروژینوزا* را

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

نشان داد(۱٤). در سال ۲۰۰۸ اثرات ضدمیکروبی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، علیه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیاکلی* و *باسیلوس سوبتلیس* نشان داده شد(۹). در سال ۲۰۱۵، Siao و همکاران در نتیجه‌ی بررسی دو سویه‌ی *لاکتوباسیلوس* بومی و ۱۰ باکتری لاکتیک اسید، عملکرد آپوپتوزی و آنتی اکسیدانی قوی سویه‌های بومی را نشان دادند(۱۵). مطالعه‌ی دیگری در سال ۲۰۱٦ نیز اثر مهاری متابولیت‌های *سودوموناس UW4* بر رشد سلول‌های آدنوکارسینومای پستان را نشان داد(۱۱). در سال ۲۰۲۰ مطالعه‌ای اثر ضدمیکروبی متابولیت‌های ساکئی بر باکتری‌های بیماری‌زا و اثر سایتوتوکسیستی آن بر سلول‌های آدنوکارسینومای کلورکتال را تایید نمود(۱٦). در تحقیق حاضر نیز توانایی متابولیت‌های *لاکتوباسیلوس ساکئی* در مهار باکتری‌های بیماری‌زای گوارشی و خاصیت پروآپوپتوزی آن بر روی سلول‌های سرطانی، در سلول‌های رده‌ی آدنوکارسینومای کولورکتال انسان (HT-۲۹)، بررسی شد. در این تحقیق خاصیت ضدمیکروبی متابولیت‌های تولیدی *لاکتوباسیلوس ساکئی* بر اساس روش چاهک نشان داد که این ترکیبات فعال زیستی اثر مهاری مناسبی بر رشد سایر عوامل بیماری‌زای باکتریایی موردنظر تحقیق دارد. علاوه بر آن با افزایش درصد مرگ سلول‌های رده‌ی آدنوکارسینومای کولورکتال در سایر گروه‌های تیمار با متابولیت‌های تولیدی *لاکتوباسیلوس ساکئی* نسبت به گروه کنترل، خاصیت پروآپوپتوزی متابولیت‌های ساکئی تایید شد. با توجه به اثرات مهاری قابل توجه *لاکتوباسیلوس ساکئی* علیه باکتری‌های بیماری‌زای گوارشی و سلول‌های رده‌ی آدنوکارسینومای کولورکتال، می‌توان امیدوار بود که استفاده از متابولیت‌های تولیدی این باکتری به‌عنوان یک پروبیوتیک در فرآورده‌های غذایی و دارویی بتواند در پیشگیری و درمان بیماری‌های میکروبی و سرطانی گوارشی موثر باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش بیانگر این مسئله است که متابولیت‌های تولیدشده توسط *لاکتوباسیلوس ساکئی* قادرند از عفونت‌های باکتری‌های بیماری‌زای گوارشی جلوگیری کنند و با تاثیرگذاری بر مسیر مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی، آپوپتوز را در سلول‌های آدنوکارسینومای کولورکتال انسان القا نماید و از این طریق در درمان سرطان کولورکتال مؤثر باشند. به‌طورکلی، با توجه به اختلال مشاهده شده در روند رشد و تکثیر باکتری‌های پاتوژن و سلول‌های سرطانی، در نتیجه‌ی قرارگیری در معرض متابولیت‌های باکتری‌های پروبیوتیک، انجام مطالعات بیشتر در این زمینه ضمن غلبه بر محدودیت‌هایی همچون جلوگیری از بروز آلودگی‌های زیستی ناشی از به‌کارگیری سویه‌های پاتوژن و تهیه نمونه‌های سرطانی، با به‌کارگیری متابولیت‌های سایر پروبیوتیک‌ها و دیگر انواع باکتری‌های بیماری‌زا و بدخیمی‌ها توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد با عنوان«تعیین اثرات پروآپوپتوزی و ضد باکتریایی لاکتوباسیلوس ساکئی بر رده سلولی آدنوکارسینومای کولورکتال انسان(HT-۲۹) و برخی پاتوژن‌های گوارشی» مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد به کد ۱۵۳۳۰۵۳۹۱۵۱۱ و کد اخلاق IR.IAU.SHK.REC.028.1397 در سال ۱۳۹۷ می‌باشد.

References

1. Homayouni A, Amini A, Keshtiban AK, Mortazavian AM, Esazadeh K & Pourmoradian S. Resistant starch in food industry: A changing outlook for consumer and producer. Starch 2014; 66(1-2): 102-14.

2. Rokhtabnak N, Khaleghi M & Sasan HA. Isolation and identification of Lactobacillus bacteria with probiotic potential from traditional dairy in Kerman. Iranian Journal of Medical Microbiology 2016; 10(1): 24-34[Article in Persian].

3. Ershadian M, Arbab Soleimani N, Ajodanifar H & Vaezi Khakhki MR. The co-aggregation effects of probiotic lactobacillus against some pathogenic bacteria. Iranian Journal of Medical Microbiology 2015; 9(3): 14-22[Article in Persian].

4. Chen H & Hoover DG. Bacteriocins and their food applications. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 2003; 2(3): 82-100.

5. Karam AM, Ebrahimi S, Mohammadi R, Mohammadi R, Mortazavian AM, Sadeghi E, et al. The role of probiotics in colon cancer prevention. Teb va Tazkieh 2015; 24(2): 29-42[Article in Persian].

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

6. Rahimi Pordanjani S, Baeradeh N, Lotfi MH & Pourmohammadi B. Epidemiology of colorectal cancer: Incidence, mortality, survival rates and risk factors. Razi Journal of Medical Sciences 2016; 23(144): 41-50[Article in Persian].

7. Wang L, Shen X, Wang Z, Xiao X, Wei P, Wang Q, et al. A molecular signature for the prediction of recurrence in colorectal cancer. International Journal of Molecular Cancer 2015; 14(22): 1-10.

8. Iyer C, Kosters A, Sethi G, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB & Versalovic J. Probiotic Lactobacillus reuteri promotes TNF-induced apoptosis in human myeloid leukemia-derived cells by modulation of NF-kappaB and MAPK signalling. Cellular Microbiology 2008; 10(7): 1442-52.

9. Anas M, Eddine HJ & Mebrouk K. Antimicrobial activity of Lactobacillus species isolated from Algerian raw goat's milk against Staphylococcus aureus. World Journal of Dairy & Food Sciences 2008; 3(2): 39-49.

10. Rolfe R. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. Journal of Nutrition 2014; 130(2 S): 396-402.

11. Pasiar M, Rouhi L, Bamzadeh Z & Hejazi SH. In vitro selective growth inhibition of breast adenocarcinoma cell lines by Pseudomonas SP. UW4 metabolites. Tehran University Medical Journal 2016; 74(9): 614-20[Article in Persian].

12. Wadher K, Mahore JG & Umekar M. Probiotics: Living medicines in health maintenance and disease prevention. International Journal of Pharma and Bio Sciences 2010; 1(3): 1-9.

13. Naeemi Z, Koohsari H & Pordeli H. Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from bovine colostrum in livestock farms of Ramian Township in located in the north of Iran. International Journal of Molecular and Clinical Microbiology 2019; 9(1): 1097-107[Article in Persian].

14. Valdez JC, Peral MC, Rachid M, Santana M & Perdigón G. Interference of Lactobacillus plantarum with Pseudomonas aeruginosa in vitro and in infected burns: The potential use of probiotics in wound treatment. Clinical Microbiology and Infection 2005; 11(6): 472-79.

15. Siao AC, Hou CW, Kao YH & Jeng KC. Effect of sesamin on apoptosis and cell cycle arrest in human breast cancer mcf-7 cells. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 2015; 16(9): 3779-83.

16. Malaki MS, Rouhi L & Khashei Varnamkhasti K. Cytotoxic and antimicrobial effects of lactobacillus Sakei on human colorectal adenocarcinoma cell line(HT29) and some pathogenic microorganisms. Tehran University Medical Journal 2020; 78(10): 644-50[Article in Persian].

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

Journal of Payavard Salamat
Vol. 14, No. 6, Feb & Mar 2021

Apoptotic Induction in Human Colorectal Adenocarcinoma Cell Line and Growth Inhibition of Some Gastrointestinal Pathogenic Species by *Lactobacillus Sakei* Metabolites

Mohammad Saber Maleki[1] (M.S.), Leila Rouhi[2*] (Ph.D.),
Khalil Khashei Varnamkhasti[3] (Ph.D.)

1 Master of Science in Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
2 Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
3 Instrucror, Department of Genetics, School of Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

Abstract

Received: Oct 2020
Accepted: Dec 2020

Background and Aim: *Lactobacillus* is the most important genus of lactic acid bacteria and the use of some species of *lactobacillus* with the probiotic potential can be effective for inhibition of the growth of some pathogens and control of gastrointestinal diseases and cancers. In this study, the pro-apoptotic and antimicrobial effect of *Lactobacillus sakei* on human colorectal adenocarcinoma cell line and some gastrointestinal pathogenic species was examined.

Materials and Methods: In this study, the antimicrobial activity of metabolites of *Lactobacillus sakei* was assessed by Well Diffusion Agar(WDA) method against some gastrointestinal pathogenic bacteria. HT-29 colorectal adenocarcinoma cancer cells were cultured in DMEM medium with 10% bovine serum. The cells were treated in 5, 10, 15 and 20 mg/ml concentrations of *sakei* metabolites and incubated at 24 and 48 hours. Apoptosis was analyzed by Annexin V-FITC/PI kit according to the manufacturers protocol in both incubation times. For error reduction, each test was performed in triplicate

Results: The results of this study indicate that *sakei* was able to produce antimicrobial metabolites against gastrointestinal pathogenic bacteria. Also, the results of the Annexin test showed that with increasing concentration of *sakei* metabolites in dose dependent manner, induction of apoptosis in this cell line increases($p<0.05$).

Conclusion: It seems that there is a good research field for the use of bioactive compounds produced by *Lactobacillus sakei* in the control of gastrointestinal pathogenic bacteria and treatment of human colorectal adenocarcinoma.

Keywords: *Lactobacillus Sakei*, Colorectal Adenocarcinoma, Gastrointestinal Pathogens, Pro-Apoptotic Effect, Antimicrobial Effect

*** Corresponding Author:**
Rouhi L
Email :
lrouhi59@gmail.com

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-01]

Copyright © 2021 Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).
Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.