اثر تجویز خوراکی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر افزایش کارآمدی سیستم ایمنی و افزایش طول عمر موش‌های مبتلا به سرطان پستان

محمد مهدی سلطان‌دلال[1*]
محمد حسین یزدی[1]
زهیر محمد حسن[2]، مرضیه هولاکویی[3]
ترانه پیمانه عابدی محتسب[1]
فرزانه امین هراتی[1]، سولماز آقا امیری[1]
مهدی مهدوی[2]

۱- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲- گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
۳- آزمایشگاه ایمنولوژی مولکولی، گروه ایمنولوژی، انستیتو پاستور ایران

[*] نویسنده مسئول: تهران، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه پاتوبیولوژی تلفن: ۶۶۴۲۲۶۸
email: soltanirad34@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۰۵/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۰۸/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به خواص تنظیم‌کنندگی سیستم ایمنی پروبیوتیک‌ها و اثر تنظیمی آنها بر عملکردهای سیستم ایمنی هدف این مطالعه بررسی این خواص در موش‌های مبتلا به سرطان پستان است که روزانه به‌صورت خوراکی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دریافت می‌کنند. ***روش بررسی:*** تعداد ۳۰ سر موش ماده شش تا هشت هفته‌ای با وزن تقریبی ۳۰-۲۵ گرم در شرایط یکسان به‌طور تصادفی در دو گروه تقسیم شدند که هر گروه شامل ۱۵ عدد موش بود. یکی از گروه‌ها به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد. موش‌های گروه اول به‌مدت دو هفته قبل از تومور‌ی شدن روزانه به‌میزان نیم میلی‌لیتر سوسپانسیون *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ($۲/۷\times۱۰^{۸}$CFU/ml) را دریافت کردند و بعد از تومور‌ی‌شدن هم با وقفه‌های سه‌روزه به‌صورت دوره‌های هفت‌روزه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را دریافت نمودند. گروه دوم (کنترل) در طول مطالعه با حجم یکسان و شرایط مساوی بافر فسفات نمکی (PBS) دریافت کردند. ***یافته‌ها:*** موش‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دارای میزان IFnγ بیشتری در کشت سلول‌های طحالی خود در مقایسه با موش‌های کنترل بوده ($p<۰/۰۰۵$) و همچنین میزان IL4 نیز که به‌عنوان سایتوکایین ایمنی هومورال و مربوط به سلول‌های Th2 می‌باشد، در موش‌های گیرنده پروبیوتیک کمتر می‌باشد ($p=۰/۳۴۷$). "بقا" در موش‌های گیرنده پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت ($p<۰/۰۰۱$). ***نتیجه‌گیری:*** مصرف روزانه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به‌عنوان یک عامل تنظیم‌کننده و محرک سیستم ایمنی در کمک به درمان افراد مبتلا به سرطان که دچار ضعف سیستم ایمنی می‌شوند می‌تواند مفید باشد.

کلمات کلیدی: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، سیستم ایمنی، موش، سرطان پستان.

مقدمه

سرطان پستان Breast cancer به‌عنوان شایع‌ترین سرطان در بین زنان در تمام جهان به‌خصوص در کشورهای غربی مطرح می‌باشد که با وجود پیشرفت‌های فراوان در علوم پزشکی هنوز هم به‌عنوان یک عامل خطر و علل مرگ ومیر ناشی از سرطان باقی مانده است.[1] آمار سرطان پستان در ایران نیز از کشورهای غربی کمتر نبوده و بر اساس برخی گزارشات این آمار ۱۲۰ در صدهزار نفر بوده که حتی نسبت به برخی از کشورهای غربی بیشتر می‌باشد.[2] با توجه به اینکه در صورت عدم تشخیص به موقع این سرطان که از نوع سرطان‌های آدنوکارسینوما می‌باشد امکان متاستاز به سایر ارگان‌ها از جمله کبد، ریه و مغز استخوان وجود داشته و همین امر سبب پیش‌آگهی بد و عموماً منجر به مرگ بیمار می‌شود و همچنین با توجه به بدیهی بودن اثر وراثت و داشتن زمینه‌های خانوادگی این بیماری در ابتلا به آن در مورد افراد در معرض خطر استفاده از عواملی که با تقویت سیستم ایمنی بتوانند جلوی پیشرفت این سرطان را بگیرند و ضمناً در دسترس بوده و مصرف ساده‌ای داشته باشند بسیار کمک کننده می‌باشد. یکی از عواملی که در این زمینه می‌تواند کاربرد داشته باشد پروبیوتیک‌ها هستند که عمده‌ترین آنها لاکتوباسیلوس‌ها می‌باشند. باکتری‌های خانواده لاکتوباسیلوس نظیر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس دلبورکی* و *بیفیدو باکتریوم‌ها* از جمله مهمترین اجزا فلور نرمال روده انسان و حیوانات می‌باشند. این باکتری‌ها به‌طور رایج به‌عنوان پروبیوتیک در ماست و سایر لبنیات استفاده می‌شوند. این باکتری‌ها به‌عنوان عوامل موثر در تقویت سیستم ایمنی در مصرف‌کنندگان و همچنین افزایش مقاومت میزبان در شرایط و

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-09]

ناهنجاری‌های مختلف مطرح می‌باشند.[۳] اثرات لاکتوباسیل‌ها به‌عنوان عوامل تنظیم‌کننده سیستم ایمنی تنها محدود به جایگاه تجویز آنها یعنی دستگاه گوارش و سیستم لنفاوی مزانتریک نبوده و در واقع این عوامل می‌توانند الگوی پاسخ ایمنی کل بدن را تحت تاثیر قرار دهند.[۴] علاوه بر این موضوع در بسیاری از موارد نشان داده شده که پروبیوتیک‌های خانواده لاکتو باسیل می‌توانند موجب کاهش میزان سرطان‌ها، بیماری‌های عفونی، بهبود بیماری‌های التهابی روده و همچنین جلوگیری از آلرژی‌ها در مدل‌های تجربی حیوانی و انسان شوند[۵] بر طبق نتایج مطالعات مختلف اثرات باکتری‌های خانواده لاکتو باسیل بر روی سیستم ایمنی در گونه‌های مختلف این جنس از باکتری‌ها متفاوت و در واقع اختصاصی گونه می‌باشد[۶] لذا انجام مطالعه در مورد هر کدام از گونه‌های این باکتری‌ها می‌تواند در بر دارنده نتایج متفاوتی باشد. در این میان استفاده از گونه‌هایی که توان تقویت سیستم ایمنی سلولی را دارند و می‌توانند باعث جهت‌گیری توسعه سلول‌های لنفوسیت T به Th1 شوند در مورد سرطان بسیار کاربردی می‌باشد. در مطالعه حاضر هدف بررسی پاسخ‌های ایمنی ناشی از تجویز خوراکی یک سویه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و تاثیر آن بر افزایش بقای موش‌های مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با موش‌هایی است که این پروبیوتیک را دریافت نمی‌کنند.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مداخله‌ای (Interventional) می‌باشد. میکرو-ارگانیسم: سویه استاندارد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ATCC4356 از کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و بیماری‌زای ایران به‌صورت لئوفلیزه تهیه شده و در محیط آگار MRS (Merck) کشت داده شد.

حیوانات آزمایشگاهی: تعداد ۳۰ عدد موش BALB/c inbread ماده با سن تقریبی شش تا هشت هفته از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند و در شرایط استاندارد نگهداری حیوانات آزمایشگاهی (۱۲/۱۲ روشنایی/ تاریکی، غذای پلت استاندارد، دمای ۲۴ درجه و رطوبت ۵۲) در قفس‌های پلاستیکی نگهداری شدند. ضمناً موش‌ها پس از انتقال به حیوان‌خانه به‌مدت یک هفته به‌منظور تطبیق با شرایط محیط جدید نگهداری شدند و پس از آن مطالعه روی آنها شروع شد.

گروه‌ها و روش تجویز پروبیوتیک: تهیه CFU 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 37^{oc} کلنی‌های رشد کرده روی محیط با PBS جمع‌آوری شده و با روش رقت‌سازی (رایج در آزمایشگاه‌ها) میزان $2/7\times10^{8}$ CFU از باکتری تهیه و روزانه نیم میلی‌لیتر از این محلول با استفاده از سوزن مخصوص گاواژ به‌هر موش خورانده شد. به‌جز گروه‌کنترل که به‌میزان مساوی PBS دریافت کردند. در واقع در این مطالعه دو گروه ۱۵تایی موش وجود داشت که ۱۴ روز قبل از پیوند تومور به‌ترتیب گروه اول لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و گروه دوم به‌عنوان گروه کنترل به‌صورت هم‌حجم PBS دریافت نمودند بعد از پیوند نیز موش‌ها با وقفه‌های سه‌روزه و به‌صورت دوره‌های هفت روز متوالی پروبیوتیک یا PBS دریافت نمودند و این روند تا پایان روز ۴۴ مطالعه ادامه یافت.

تومورزی نمودن موش‌ها: موش توموری مدل سرطان خودبه‌خودی پستان توسط دکتر حسن تائید و بعد از نخاعی نمودن موش تومور، استریل از بدن خارج شد و در نرمال سالین استریل با اسکالپل و تیغ جراحی به قطعات $5mm^{3}$ تقسیم شد، سپس هر کدام از موش‌ها با تزریق داخل صفاقی ketamine/ xylene (شرکت alfasan هلند) با دوز ۱۰mg/kg بیهوش شد. قطعات تومور در زیر پوست ناحیه پهلوی راست آنها پیوند و با کلیپس مخصوص بخیه شد. حدود یک هفته بعد از پیوند رشد تومورها با چشم قابل دیدن بود.

بررسی میزان پرولیفراسیون سلول‌های ایمنی با روش MTT: بدین منظور پس از تهیه کشت سلول طحالی سوسپانسیونی به‌میزان یک میلیون سلول در میلی‌لیتر تهیه شد و در پلیت‌های مسطح ۱۰۰µl از آن‌را در هر چاهک ریخته و سپس با استفاده از ۱۰۰µg/ml از آنتی‌ژن اختصاصی تومور تحریک شد، در برخی از چاهک‌ها به‌عنوان کنترل آنتی‌ژن اختصاصی تومور اضافه نشد تا ضریب عدم تحریک محاسبه گردد. حجم نهایی چاهک‌ها ۲۰۰µl بود، به‌عنوان بلانک از محیط RPMI خالی استفاده شد، پلیت‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای 37^{o} و در مجاورت با CO2 انکوبه شدند و پس از ۷۲ ساعت به هر چاهک ۲۵µl ماده MTT اضافه شد و چهار ساعت دیگر انکوباسیون ادامه یافت در این مدت احیا ماده MTT توسط سلول‌های زنده و در حال تکثیر سبب تشکیل کریستال‌های فورمازان شد که برای حل شدن آنها پس از این مدت به همه چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر ماده DMSO اضافه شد و سپس در طول موج ۵۷۰nm جذب سلول‌های تحریک شده به تحریک نشده به‌عنوان اندیکس تحریکی محاسبه گردید.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-09]

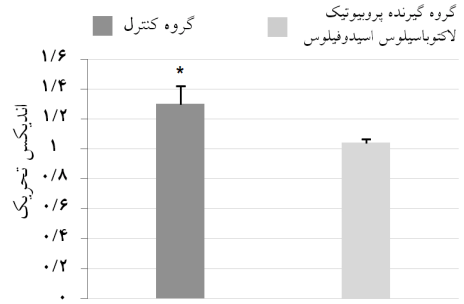
تهیه کشت سلولی طحالی و سنجش سایتوکاین‌های IL4 و IFnγ در سوپ رویی کشت طحال: ۳۰ روز بعد از پیوند تومور از هر گروه هشت موش را نخاعی کرده تحت شرایط استریل طحال از بدن آنها خارج شد، سپس با استفاده از پنس و قیچی استریل طحال را قطعه قطعه نموده و از آن سوسپانسیون سلولی تهیه گردید در مرحله بعد این سوسپانسیون را در دور ۳۰۰g به‌مدت ۱۰ دقیقه و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ نموده و به رسوب به‌دست آمده پنج میلی‌لیتر از بافر لیزکننده RBC اضافه شد و پس از پنج دقیقه با اضافه نمودن PBS سرد سلول‌ها از شوک لیز خارج و با PBS سانتریفیوژ شدند، سپس در محیط RPMI+FBS (sigma) سوسپانسیون شده و پس از شمارش سلولی تعداد 5×10^{6}(cell/ml) از آن تهیه شد و در پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای دو میلی‌لیتر از محیط فوق قرار گرفته و با آنتی‌ژن اختصاصی تومور به‌مدت ۶۰ ساعت تحریک شد. مایع رویی کشت به‌دست آمده از سلول‌های طحالی پس از این مدت جمع‌آوری و پس از سانتریفیوژ (در دور ۳۰۰g به‌مدت ۱۰ دقیقه و در دمای 4^{oc}) از لحاظ میزان تولید سایتوکاین‌های IL4 و IFnγ با روش ELISA و با استفاده از کیت سنجش سایتوکاین کمپانی R&D بررسی شد.

بررسی طول عمر موش‌ها (Survival): بدین منظور تعداد هفت موش از هر گروه را بعد از پایان دوره تجویز پروبیوتیک تا روز مرگ طبیعی در اثر رشد تومور نگهداری کرده و روزانه مرگ و میر آنها را ثبت می‌کنیم، به‌منظور جلوگیری از مرگ غیر طبیعی در اثر عوامل مداخله‌گر، موش‌ها در تعداد کم و قفس‌های مجزا نگهداری شدند و هرگونه مرگ در اثر تهاجم موش‌های دیگر از مطالعه حذف شد. در آنالیز آماری از آزمون ANOVA استفاده شد و داده‌ها با نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۳ بررسی و معنی‌داری داده‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

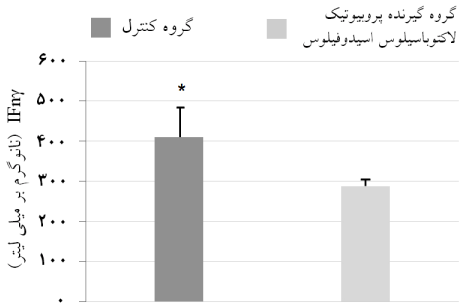
یافته‌ها

نتایج تست پرولیفراسیون سلول‌های ایمنی با روش MTT: تست MTT با همان روشی که در بخش مواد و روش‌ها توضیح داده شد برای بررسی میزان تکثیر سلول‌های ایمنی در تحریک با آنتی‌ژن اختصاصی تومور در هر دو گروه انجام شد و نتایج آن نشان‌دهنده تکثیر بیشتر سلول‌های ایمنی طحالی در گروه گیرنده پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در مقایسه با گروه کنترل در تحریک با آنتی‌ژن اختصاصی تومور بود که از همین‌جا می‌توان به محرک سیستم ایمنی بودن این پروبیوتیک اشاره نمود (نمودار ۱).

نتایج تست سنجش سایتوکاین‌ها: پس از تهیه مایع رویی کشت سلول‌های طحالی که جزئیات آن در مواد و روش‌ها گفته شد از تست الیزا برای سنجش میزان سایتوکاین‌های IL4 و IFnγ استفاده شد و نتایج نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار (p<۰/۰۰۵) IFnγ در مایع رویی کشت سلول‌های طحالی موش‌های گیرنده *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در مقایسه با گروه کنترل بود (نمودار ۲). نتایج سنجش میزان IL4 نیز که از سایتوکاین‌های Th2 می‌باشد نشان‌دهنده کاهش در تولید این سایتوکاین در موش‌های گیرنده لاکتوباسیل بود (نمودار ۳)

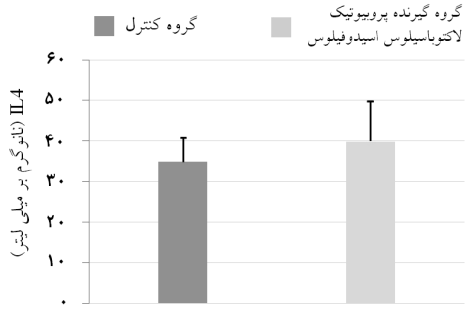


نمودار-۱: تکثیر سلول‌های ایمنی در تحریک با آنتی‌ژن توموری در دو گروه: از سلول‌های طحالی موش‌ها سوسپانسیونی به‌میزان یک میلیون سلول در میلی‌لیتر تهیه شد و در پلیت‌های مسطح ۱۰۰µl از آن را در هر چاهک ریخته و سپس با استفاده از ۱۰۰µg/ml از آنتی‌ژن اختصاصی تومور تحریک شد پلیت‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای 37^{o} و در مجاورت با CO_2 انکوبه شدند و پس از ۷۲ ساعت به هر چاهک ۲۵µl ماده MTT اضافه شد و چهار ساعت دیگر انکوباسیون ادامه یافت سپس برای حل شدن کریستال‌های فورمازان ناشی از احیا ماده MTT از DMSO استفاده شد و در طول موج ۵۷۰nm نتایج قرائت شد که این نتایج نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۰۵) در تکثیر بیشتر سلول‌های طحالی در موش‌های گیرنده پروبیوتیک بود.

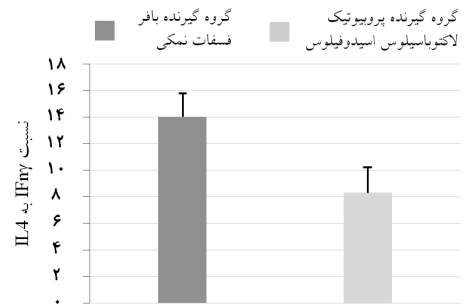


نمودار-۲: نتایج سنجش IFnγ: پس‌از تهیه سوسپانسیون سلول‌های طحالی و شمارش سلولی تعداد 5×10^{6}(cell/ml) تهیه‌و در پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای ۱ml از سوسپانسیون با ۱ml از محیط RPMI 1540 قرار گرفته و با آنتی‌ژن اختصاصی تومور ۶۰ ساعت تحریک‌و سپس این مایع از لحاظ سایتوکاین‌ها بررسی شد که میزان IFnγ به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۰۵) در گروه گیرنده *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بالاتر بود.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-09]



نمودار-۳: سنجش IL4: تولید در گروه *لاکتوباسیلوس* نسبت به کنترل با وجود کاهش قابل ملاحظه اختلاف معنی‌دار نداشت (p=۰/۳۴۷).

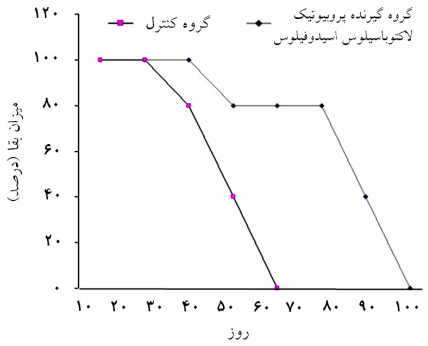


نمودار-۴: نسبت IFnγ به IL4 در دو گروه: نشانه‌ای از نوع پاسخ Th1/Th2 به‌طور قابل توجهی افزایش در نسبت IFnγ در گروه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دیده شد.

همچنین نسبت IFnγ به IL4 در هر دو گروه در نمودار ۴ نشان داده شده که می‌تواند نشان از جهت‌گیری پاسخ ایمنی با تمایل به لنفوسیت‌های Th1 باشد. بر طبق نتایج پی‌گیری مرگ و میر موش‌ها یا همان بقا در موش‌های گیرنده پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به‌طور معنی‌دار (p<۰/۰۰۱) و چشمگیری بقا افزایش یافته و در حالی‌که آخرین موش‌های گروه کنترل در ۶۰ روز پس از مطالعه بر اثر تهاجم تومور از بین رفتند در گروه پروبیوتیک تا نزدیک ۱۰۰ روز پس از پایان مطالعه نیز موش‌ها زنده بودند (نمودار ۵).

بحث

بنا بر تعریف سازمان جهانی بهداشت WHO و سازمان خواروبار جهانی FAO پروبیوتیک‌ها دسته‌ای از میکروارگانیسم‌های مفید در دستگاه گوارش هستند که در صورت مصرف با دوز معین می‌توانند تاثیرات مفیدی را بر سلامتی مصرف‌کننده داشته باشند.[۷] در بین پروبیوتیک‌ها باکتری‌های خانواده لاکتوباسیل رایج‌ترین میکرو-ارگانیسم‌های مورد استفاده هستند. این دسته از باکتری‌ها علاوه بر داشتن توانایی جلوگیری از ایجاد عفونت در دستگاه گوارش دارای



نمودار-۵: بررسی‌بقا: موش‌ها بعداز تجویز پروبیوتیک تا مرگ‌در اثر تومور نگهداری و مرگ‌روزانه ثبت، اختلاف‌معنی‌دار در افزایش بقای گروه‌گیرنده پروبیوتیک دیده‌شد.

خواص تنظیم‌کنندگی و تحریک‌کنندگی بر سیستم ایمنی هستند که همان‌طور که قبلاً نیز اشاره شد این خواص فقط مربوط به سیستم ایمنی موضعی در ناحیه گوارش نبوده و بر کل الگوی پاسخ ایمنی در بدن موثر می‌باشند[۴] و بر همین اساس مصرف آنها در ناهنجاری‌های مختلف ایمنولوژیک می‌تواند سبب تعدیل شرایط و کاهش علائم بیماری گردد. در مطالعه حاضر تاثیر پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر الگوی سایتوکاین‌های القایی در طحال موش نشان دهنده افزایش در تولید سایتوکاین‌های Th1 مثل IFnγ و کاهش سایتوکاین‌های Th2 مثل IL4 بود که می‌تواند دلیلی بر تقویت ایمنی سلولی وابسته به لنفوسیت‌های Th1 محسوب شود. IFnγ با نام اینترفرون ایمن هم نامیده می‌شود و توسط سلول‌های Th1, Tc, NK و DC (دندرتیک سل) ترشح می‌گردد و دارای خواص تنظیم‌کننده ایمنی، ضد ویروسی و ضد توموری می‌باشد.[۱۲] در مورد عملکردهای این سایتوکاین می‌توان گفت که در واقع IFnγ مهمترین سایتوکاین مربوط به سلول‌های Th1 می‌باشد که موجب تقویت عملکرد عرضه توسط ماکروفاژها و همچنین تقویت عملکرد سلول‌های کشنده طبیعی (NK) می‌گردد.[۸] از طرف دیگر IFnγ از جمله سایتوکاین‌هایی است که می‌تواند باعث افزایش بیان مولکول‌های سازگاری نسجی (MHC) در سطح سایر سلول‌ها گردد[۹] همچنین این سایتوکاین در سرکوب فعالیت سلول‌های Th2 و افزایش بیان مارکرهای سطحی اتصال برای مهاجرت لنفوسیت‌ها نیز نقش دارد.[۱۳] با توجه به نقش‌های ذکر شده برای IFnγ در بالا می‌توان گفت از آنجا که سلول‌های کشنده طبیعی به‌عنوان اولین خط دفاعی بر علیه سلول‌های توموری نقش به‌سزایی در دفاع میزبان در شرایط ابتلا به تومور ایفا می‌کنند لذا افزایش IFnγ می‌تواند به عملکرد بهتر این دسته از

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-09]

سلول‌های ایمنی منجر شود. همان‌طور که اشاره شد از دیگر نقش‌های IFnγ می‌توان افزایش بیان مولکول‌های سازگاری نسجی در سطح سلول‌ها توسط این سایتوکاین را نام برد که با توجه به این‌که یکی از راه‌های فرار سلول‌های توموری از شناخته‌شدن به‌وسیله سیستم ایمنی بدن کاهش بیان این مولکول‌ها در سطح سلول می‌باشد لذا افزایش سطح این سایتوکاین می‌تواند از این راه نیز به دفاع کارآمدتر بدن در مقابل تومور کمک کند. ضمن اینکه حتی در صورت عدم بیان MHC در سطح سلول‌های توموری این دسته از سلول‌ها توسط سلول‌های کشنده طبیعی (NK) و مکانیسم‌های سایتولیز آن از بین می‌روند[۱۴] که IFnγ موجب تقویت این سلول‌ها نیز می‌گردد. گزارشات مختلفی مبنی‌بر کاهش عملکرد و کارایی سیستم ایمنی افراد مبتلا به سرطان به خصوص در سرطان پستان وجود دارد[۱۱و۱۰] که اشاره به‌کاهش عملکرد سایتولیتیک، کاهش تکثیر در سلول‌های ایمنی و در نتیجه کاهش تولید سایتوکاین‌ها در اثر ابتلا به سرطان پستان می‌کند. در این مطالعه نتایج مربوط به تست پرولیفراسیون سلول‌های ایمنی نشان‌دهنده افزایش تکثیر این سلول‌ها در موش‌های گیرنده پروبیوتیک در مقایسه با گروه کنترل بود که همین امر منجر به افزایش تولید سایتوکاین IFnγ نیز شده است و از این‌رو می‌توان از این پروبیوتیک به‌عنوان یک عامل Immunostimulator یاد کرد که در شرایط سرکوب سیستم ایمنی مثل ابتلا به سرطان می‌تواند به‌عنوان یک تقویت‌کننده سیستم ایمنی مطرح باشد. از طرف دیگر کاهش سایتوکاین‌های مربوط به Th2 نظیر IL4 در اثر تجویز پروبیوتیک می‌تواند به بهبود شرایط و پیش‌آگهی سرطان کمک کند چرا که با توجه به نقش مهاری سایتوکاین‌های Th1 و Th2 بر تولید یکدیگر و کاهش IL4 و افزایش IFnγ احتمال دیگری بر تقویت پاسخ Th1 در موش‌های گیرنده پروبیوتیک می‌باشد که در حقیقت پاسخ ایمنی مورد نیاز در شرایط ابتلا به تومور پاسخ لنفوسیت‌های Th1 می‌باشد. آنچه ما را در قضاوت کردن در مورد نقش مثبت لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس در تقویت ایمنی و کارآمد سازی پاسخ ایمنی بر ضد سرطان مطمئن‌تر می‌سازد نتایج مربوط به بررسی بقا در موش‌های گیرنده این پروبیوتیک و مقایسه آن با گروه کنترل است. این نتایج حاکی از افزایش چشمگیر و معنی‌دار طول عمر موش‌های گیرنده پروبیوتیک در مقایسه با گروه کنترل است که در مدت مطالعه PBS دریافت نمودند که این نتایج در کنار سایر داده‌های این مطالعه می‌تواند نشان‌دهنده اثرات مفید تجویز روزانه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در تقویت پاسخ ایمنی بر ضد تومور باشد، از این‌رو می‌توان به‌نتایج رضایت‌بخش در انجام مطالعات کلینیکی برروی افراد داوطلب مبتلا به سرطان پستان نیز امیدوار بود. *سپاسگزاری*: این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران به‌شماره قرارداد ۶۹۵۴، مورخ ۱۳۸۷/۲/۲۷ می‌باشد.

References

1. Immunological enhancement of breast cancer. Immunological enhancement of breast cancer. *Parasitology* 1997;115 Suppl:S141-53.
2. Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. *Breast J* 2007;13(4):383-91.
3. de Moreno de LeBlanc A, Matar C, LeBlanc N, Perdigón G. Effects of milk fermented by Lactobacillus helveticus R389 on a murine breast cancer model. *Breast Cancer Res* 2005;7(4):R477-86.
4. Perdigón G, Fuller R, Raya R. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. *Curr Issues Intest Microbiol* 2001;2(1):27-42.
5. Shida K, Suzuki T, Kiyoshima-Shibata J, Shimada S, Nanno M. Essential roles of monocytes in stimulating human peripheral blood mononuclear cells with Lactobacillus casei to produce cytokines and augment natural killer cell activity. *Clin Vaccine Immunol* 2006;13(9):997-1003.
6. 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.
7. Reid G; Food and Agricultural Organization of the United Nation and the WHO. The importance of guidelines in the development and application of probiotics. *Curr Pharm Des* 2005;11(1):11-6.
8. Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, Cousens LP, Salazar-Mather TP. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annu Rev Immunol* 1999;17:189-220.
9. Angiolillo AL, Sgadari C, Taub DD, Liao F, Farber JM, Maheshwari S, et al. Human interferon-inducible protein 10 is a potent inhibitor of angiogenesis in vivo. *J Exp Med* 1995;182(1):155-62.
10. 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.
11. O'Hara RJ, Greenman J, MacDonald AW, Gaskell KM, Topping KP, Duthie GS, et al. Advanced colorectal cancer is associated with impaired interleukin 12 and enhanced interleukin 10 production. *Clin Cancer Res* 1998;4(8):1943-8.
12. Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J Leukoc Biol* 2004;75(2):163-89.
13. Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. The roles of IFN gamma in protection against tumor development and cancer immunoediting. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002;13(2):95-109.
14. Oldham RK. Natural killer cells: artifact to reality: an odyssey in biology. *Cancer Metastasis Rev* 1983;2(4):323-36.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-09]

Tehran University Medical Journal; Vol. 67, No. 11, Feb 2010: 753-758

Effect of oral administration of *lactobacillus acidophilus* on the immune responses and survival of BALB/c mice bearing human breast cancer

Soltan Dallal MM.[1*]
Yazdi MH.
Hassan ZM.[2]
Holakuyee M.[3]
Abedi Mohtasab TP.[1]
Aminharaty F.[1]
Agha Amiri S.[1]
Mahdavi M.[2]

1- Department of Pathobiology, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Science
2- Department of Immunology, School of Medical Science, Tarbiat Modares University
3- Molecular Immunology Lab, Pastur Institute of Iran

[*] Corresponding author: Dept. of Microbiology, School of Public Health & Institute Health Research, Tehran University of Medical Sciences, P.O.Box: 14155-6446,Tehran, Iran
Tel: +98-21-66462268
email: soltanirad34@yahoo.com

Received: August 03, 2009 Accepted: November 14, 2009

Abstract

Background: In according to immunomodulatory effect of probiotics and effect of these bacteria on the effectiveness of immune responses, we proposed the evaluation of oral administration of *L.acidophilus* on the immune statues in BALB/c mice bearing breast cancer.

Methods: A total of 30 in-bred BALB/c mice aged six to eight weeks weighting 25-30g were randomly enrolled in two groups each consist of 15 mices. The *L.acidophilus* ATCC4356 strain used in this study is inoculated in MRS broth and cultivated for a day at 37^{oC} under anaerobic conditions, collected by centrifugation and resuspend in Phosphate Buffer Saline (PBS). After preparation of proper amount of these suspensions it was orally administered to the mice with a gastric feeding tube. Control mices received an equal volume of PBS in the same period.

Results: The production of IFnγ was increased ($p<0.005$), and the production of Th2 cytokines such as IL4 ($p=0.347$) was decreased in the *L.acidophilus* administered mice in comparison to the control group. In addition to the proliferation of immune cells in probiotic group was significantly higher than controls ($p<0.05$), and most importantly probiotic administered mice showed an increase in survival rate of this group compared to control mice ($p<0.001$).

Conclusion: This study suggests the daily consumption of *Lactobacillus acidophilus* can regulate immune responses skewed Th1 balance that is needed against tumor. Further studies are needed to investigate the other mechanisms of this effect.

Keywords: *Lactobacillus acidophilus*, immune system, breast neoplasm, mice.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-09]