مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۱۹، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۰
صفحه: ۷۱۰-۷۰۱

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 19, No. 5, Nov-Dec 2011
Pages: 701-710

اثر هم افزایی مهاری لاکتوباسیلوس رامنوسوس و داروی سیسپلاتین روی میزان تکثیر سلول‌های توموری موش‌های BALB/C مبتلا به سرطان پستان

باران قزلباش*[۱]، زهیر محمدحسن[۲]، فیروز قادری پاکدل[۳]، صمد زارع[۴]

۱- کارشناس ارشد گروه زیست شناسی، دانشگاه ارومیه
۲- استاد گروه ایمونولوژی، دانشگاه تربیت مدرس
۳- دانشیار گروه فیزیولوژی جانوری، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه
۴- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۹/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۷/۷

چکیده

مقدمه: لاکتوباسیلوس‌ها نه تنها باعث تاثیر بر میکروفلورای دستگاه گوارش و تحریک سیستم ایمنی موضعی دستگاه گوارشی می‌شود، بلکه می‌تواند باعث تعدیل و تحریک سیستم ایمنی مرکزی از جمله گره‌های لنفاوی و طحال گردد. خواص ضد توموری این دسته از باکتری‌ها در مطالعات گوناگون نشان داده شده است. هدف این مطالعه حاضر هدف بررسی اثرات لاکتوباسیلوس رامنوسوس به عنوان پروبیوتیک بر اثر بخشی بیشتر داروی سیسپلاتین در موش‌های مبتلا به سرطان پستان بود.

روش بررسی: باکتری در محیط کشت اگار کشت داده شد، سپس توسط روش رایج رقیق‌سازی به دوز مورد نظر رسانده شد. ۲۰ سر موش BALB/C ماده ۴ تا ۶ هفته‌ای بعد از توموری شدن به طریق پیوند، بطور تصادفی در چهار گروه ۱- کنترل، ۲- پروبیوتیک، ۳- پروبیوتیک و سیسپلاتین و ۴- سیسپلاتین تقسیم شدند. موش‌های گروه پروبیوتیک یک هفته قبل از توموری شدن روزانه به میزان(3×10^8 CFU(Colony Forming Unit باکتری دریافت کردند و بعد از توموری شدن هم با وقفه‌های ۳ روزه بصورت دوره‌های ۷ روزه این کار ادامه یافت. گروه‌های دیگر در تمام طول مطالعه با حجم یکسان و شرایط مساوی فسفات بافر سولفات دریافت کردند. در گروه ۳ و ۴ نیزداروی سیسپلاتین با دوز ۵ mg/kg بصورت داخل صفاقی دو بار در هفته تجویز شد. موش‌ها ۲۴ ساعت بعد از آخرین دوز کشته شدند.

نتایج: تجویز پروبیوتیک باعث کاهش معنی‌دار رشد تومور در مقایسه با گروه کنترل گردید. یکی از دلایل اثرات ضد سرطانی لاکتوباسیلوس‌ها از راه تقویت سیستم ایمنی است، نتایج حاصل از تست التهاب حساسیت تاخیری نیز حاکی از تحریک سیستم ایمنی توسط لاکتوباسیلوس و مهار رشد توموری از این طریق بود. در مطالعات پاتولوژی تومور نیز تجویزپروبیوتیک باعث افزایش اثرات ضدسرطانی داروی سیسپلاتین شده بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان به نتایج رضایت بخش انجام مطالعات انسانی با استفاده از این پروبیوتیک به عنوان درمان مکمل در درمان مبتلایان به این نوع سرطان در کنار درمان های معمول سرطان امیدوار بود.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، سیس پلاتین، موشBALB/C

*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۴۴۴۷۷۷۶۲، پست الکترونیکی: st_b.ghezelbash@urmia.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-09-12]

مقدمه

علیرغم پیشرفت‌های سال‌های اخیر در زمینه علل مولکولی سرطان پستان، هنوز سرطان پستان علت اصلی مرگ زنان مبتلا بخصوص در کشورهای غربی محسوب می‌شود. عوامل ژنتیکی و محیطی از جمله فاکتورهای اصلی سرطان پستان هستند که شانس ابتلا به این نوع سرطان را افزایش می‌دهند. بالاترین شیوع سرطان پستان مربوط به زنان سفید پوست در آمریکا و کمترین آن مربوط به زنان چینی و ژاپنی می‌باشد(۱).

در سال ۲۰۰۱ انجمن سرطان آمریکا ۱۹۲/۲۰۰ مورد از این بیماری را گزارش کرد که نشان دهنده شیوع چشمگیر آن می‌باشد. در سال ۲۰۰۳ در جامعه آمریکا ۳۹/۸۰۰ نفر زن و ۴۰۰ نفر مرد در اثر ابتلا به این نوع سرطان جان خود را از دست داده‌اند. سرطان پستان به عنوان دومین سرطان شایع در بین زنان ایرانی مطرح بوده است و بر اساس گزارشات موجود میزان شیوع آن در کشور ما ۱۲۰/۱۰۰/۰۰۰ می‌باشد که در مقایسه با برخی کشورهای غربی، آمار بالاتری را به خود اختصاص می‌دهد(۲،۳).

یکی از راه‌های مرسوم در درمان سرطان، شیمی درمانی است. از داروهای مورد استفاده در شیمی درمانی می‌توان به داروی سیسپلاتین(Cisplatin) اشاره کرد. سیس پلاتین یکی از داروهای متداول می‌باشد که اثر آنتی توموری آن با افزایش دوز مصرفی بیشتر می‌شود. این دارو در حدود سی سال است که در درمان انواع مختلفی از سرطان‌ها استفاده می‌شود ولی به دلیل داشتن عوارض جانبی بر بیمار از جمله عوارض و نارسایی کلیوی و کبدی، مصرف و تجویز این دارو محدود شده است(۴).

بسیاری از مطالعات صورت گرفته بر روی بیماران مبتلا به سرطان پستان حاکی از کاهش پاسخ ایمنی از جمله پاسخ افزایش حساسیت تاخیری، عملکرد سیتولیتیک، کاهش تکثیر در سلول‌های ایمنی و در نتیجه کاهش سایتوکاین‌ها در اثر ابتلا به این بیماری می‌باشد(۵). در نتیجه عواملی که قادر به تقویت سیستم ایمنی هستند می‌توانند در کنترل سرطان کمک کننده باشند. یکی از عوامل مطرح در تقویت سیستم ایمنی، پروبیوتیک‌ها می‌باشند. پروبیوتیک‌ها دسته‌ای از میکروارگانیسم‌های زنده هستند که در صورت مصرف به میزان مشخص، اثرات مفیدی در سلامت مصرف کنندگان ایجاد می‌کنند. باکتری‌های لاکتوباسیلوس بیشترین میکروارگانیسم‌هایی هستند که به عنوان پروبیوتیک مورد استفاده قرار گرفته‌اند. پروبیوتیک‌ها از جمله لاکتوباسیلوس‌ها در مطالعات انجام شده نشان داده که باعث مهار رشد بسیاری از انواع سلول‌های پاتولوژیک شده‌اند. این گروه از باکتری‌ها که به عنوان پروبیوتیک مطرح شده‌اند می‌توانند باعث افزایش پاسخ ایمنی میزبان شده و همچنین اثرات پیشگیری کننده در ابتلا به سرطان و نیز مهار کنندگی رشد تومور سرطانی داشته باشند. ارولوژیست ژاپنی به نام Michio Asano اولین دانشمندی بود که به اثرات آنتی‌توموری لاکتوباسیلوس‌ها به عنوان پروبیوتیک در درمان سرطان مثانه پی برد. مطالعات اخیر نیز نشان دهنده اثرات ضد توموری لاکتوباسیل ها و نیز اثرات مهار رشد تومور در مدل‌های آزمایشگاهی می‌باشند(۶).

در سال ۱۹۸۴ Kato و همکارانش پیشنهاد دادند که لاکتوباسیلوس‌ها با تحریک سیستم ایمنی از جمله افزایش سلول‌های لنفوسیت(T cells) باعث اثرات مهار کنندگی رشد تومور می‌شوند. در این مطالعه از باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس به عنوان یک پروبیوتیک در درمان سرطان پستان موش‌های بالبسی به عنوان یک داروی مکمل در کنار درمان با داروی سیس پلاتین استفاده شده است. در این مقاله اثر بازدارندگی یا مهار کنندگی لاکتوباسیلوس رامنوسوس به همراه درمان با سیس پلاتین در رشد تومور مورد پژوهش قرار گرفته است(۷).

روش بررسی

مطالعه انجام گرفته مطالعه یک مطالعه بنیادی بوده و جنبه تجربی و پژوهشی دارد. استفاده از نتایج حاصل در موارد کلینیکی صرفاً منوط به نتیجه‌های سایر مطالعات و نیز تایید معاونت دارو و غذا ی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی است.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-09-12]

کشت میکروارگانیسم:

باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس LMG 18243 (Bacteria Collection, Laboratorium voor Microbiologie, Ghent University, Gent, Belgium) در محیط MRS آگار(Merck, Germany) به صورت روزانه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه و کشت داده می‌شد.

حیوانات آزمایشگاهی:

تعداد ۲۰ سر موش ماده Balb/C با سن تقریبی ۴ تا ۶ هفته از انستیتو پاستور تهران خریداری شده و در شرایط مناسب(دوره روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته، شروع روشنایی ساعت ۸ صبح، تغذیه حیوانات با پلت‌های استاندارد، دمای محل نگهداری ۱°C ± ۲۳ با رطوبت ۵۲ درصد) به مدت یک هفته نگهداری شدند تا با شرایط خانه حیوان تطابق حاصل نمایند. تمام روش‌های آزمایشی روی حیوانات با توجه به معاهدات هلسینکی در خصوص رعایت حقوق حیوانات و نیز موازین اخلاقی در پژوهش‌های پزشکی انجام شده است. مراحل انجام آزمایش و نگهداری حیوانات تحت نظارت کمیته اخلاق در پژوهش‌های پزشکی دانشگاه تربیت مدرس صورت می‌گرفت.

موش‌های بالبسی به طور تصادفی در چهار گروه تقسیم شدند که در هر گروه پنج سر موش مورد مطالعه قرار گرفت. گروه‌ها عبارت بودند از گروه کنترل، گروه پروبیوتیک(دریافت کننده لاکتوباسیلوس رامنوسوس)، گروه سیس پلاتین، گروه پروبیوتیک و سیس پلاتین. تعداد موش‌های تحت آزمایش در هر گروه با توجه به توصیه‌های کتب آمار در مطالعات حیاتی انتخاب شده و در کمیته اخلاق ناظر مورد تصویب قرار گرفته بود.

روش تجویز باکتری:

دوز مناسب تجویز و روش تجویز باکتری‌ها به این صورت بود که ابتدا باکتری در محیط کشت (de Man, Rogosa and Sharpe):MRS آگار به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شده، سپس کلنی‌های رشد کرده توسط ۱ml فسفات بافر سولفات جمع‌آوری شده و با استفاده از روش رقت سازی(رایج در آزمایشگاه) میزان 3×10^8 CFU از باکتری تهیه و روزانه از این سوسپانسیون باکتری با استفاده از سوزن مخصوص گاواژ به هر موش خورانده شد. گروه‌های دیگر نیز در تمام طول مطالعه با حجم یکسان و شرایط مشابه PBS(Phosphate Buffered Serum) دریافت کردند. در ادامه سیس پلاتین با دوز 5mg/Kg بصورت داخل صفاقی دو بار در هفته(روزهای شنبه و سه شنبه) به گروه‌های سوم و چهارم تجویز شد. گاواژ باکتری یک هفته قبل از توموری شدن موش‌ها وبعد از پیوند توده سرطانی نیز با فاصله سه روز وقفه به صورت دوره گاواژ هفت روز مداوم بمدت ۲۷ روز بعد از پیوند تومور ادامه یافت.

توموری شدن موش‌ها:

پس از تایید موش توموری و مدل سرطان خود به خودی (Spontaneous) پستان توسط دکتر حسن، موش را نخاعی نموده و تومور بصورت استریل از بدن موش جدا شده و داخل سرم فیزیولوژی استریل به قطعات ۳ میلی مترمکعبی تقسیم شد. موش‌های مورد مطالعه با تزریق داخل صفاقی داروی بیهوشی کتامین(با دوز ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلین(با دوز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن)، بیهوش شدند و سپس قطعات آماده شده تومور با روش جراحی در زیر پوست ناحیه فلانک چپ موش‌ها پیوند زده شد و جای جراحی با کلیبس مخصوص، بخیه زده شد. حدود یک هفته بعد از پیوند رشد تومورها با چشم قابل مشاهده بود.

اندازه‌گیری سیر رشد تومور:

یک هفته بعد از توموری شدن موش‌ها حجم تومور در دو جهت طول و عرض توسط کولیس ورنیه هر ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد و تا آخرین روز تیمار ادامه یافت و با فرمول ۱/۲ طول × عرض^2 محاسبه گردید. بررسی تغییرات مربوط به حجم تومور بر اساس درصد افزایش حجم تومور نسبت به روز صفر که همان اوایل شروع تومور محسوب می‌شد، محاسبه گردید.

بررسی میزان التهاب ناشی از DTH:

بررسی بیش حساسیت تاخیری یا DTH(Delayed-Type Hypersensitivity): بررسی بیش حساسیت تاخیری برای

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-09-12]

تعیین بالانس فعالیت لنفوسیت‌های T کمکی(T-helper) بین Th1 و Th2 روش مرسومی است. ایمنی مربوط به Th1 ایمنی سلولی(Cellular Immunity) بوده و در پاسخ ایمنی علیه بیماری‌های ویروسی و نیز حذف سلول‌های سرطانی نقش داشته ولی ایمنی مربوط به Th2 مسئول ایمنی هومورال(humoral Immunity) می‌باشد. آنتی‌ژن اختصاصی از بافت توموری یک موش مبتلا به آدنوکارسینومای پستان با روش سونیکیشن و دیالیز و تخلیص تهیه شد(۹،۱۰). سپس از این آنتی‌ژن به میزان ۲۰ میکرولیتر به کف پای چپ تمام موش‌ها تزریق و به کف پای دیگر همان مقدار فسفات بافر سولفات تزریق گردید و میزان التهاب ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد با کولیس ورنیکه اندازه‌گیری گردید. لازم به ذکر است که این تست ۳ روز آخر تیمار انجام شد و با استفاده از فرمول زیر نتایج بررسی گردید.

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

تهیه بافت توموری فیکس شده و بررسی‌های پاتولوژیک:

بدین منظور بعد از کشتن موش‌های هر گروه در پایان روز ۳۶، قطعات۵ میلی‌متری از بافت تومور تهیه و در فرمالین ده درصد جهت انجام مطالعات پاتولوژیکی گذاشته شد. از بافت توموری که داخل فرمالین ۱۰ درصد بود طبق روش کار معمول در آزمایشگاه‌های پاتولوژی، لام میکروسکوپی تهیه و با رنگ‌آمیزی H&A(هماتوکسیلین-ائوزین) رنگ شده و نتایج میزان نکروز داخل بافت توموری بررسی شد. شمارش فاکتورهای مورد نظر از جمله اشکال میتوزی و سلول‌های نکروز شده در ۹ میدان دید بصورت تصادفی توسط میکروسکوپ نوری مطالعه و شمرده شده است. عکس‌های گرفته شده توسط دوربین Sony W55 و با بزرگنمایی ۴۰۰ می‌باشد.

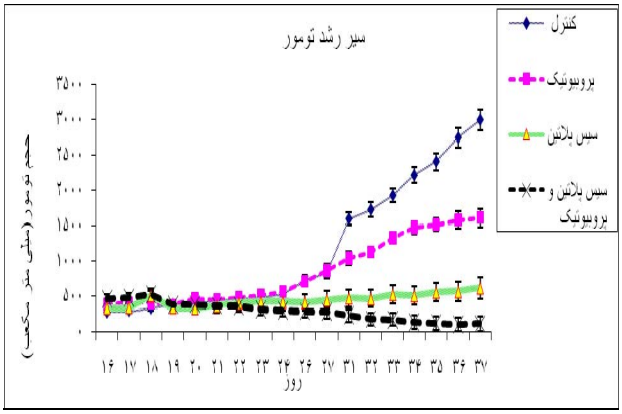
آنالیز آماری:

برای تجزیه و تحلیل داده‌های از آزمون T test و ANOVA یک طرفه استفاده شد. ویرایش ۱۵ نرم‌افزار SPSS برای این منظور استفاده شد. سطح معنی‌داری داده‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

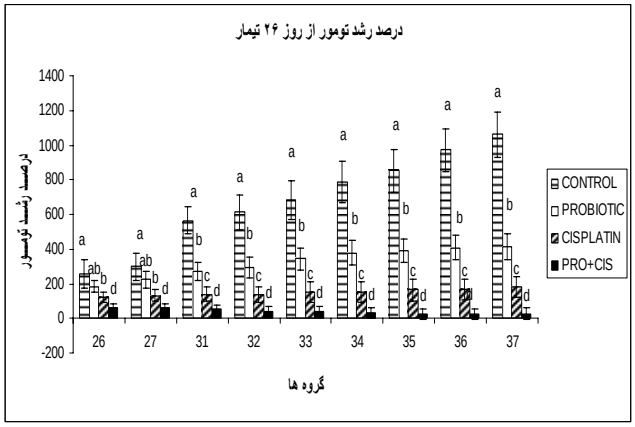
نتایج

نتایج سیر رشد و حجم نهایی:

تجزیه و تحلیل نتایج نشان داد که به ترتیب گروه کنترل، پروبیوتیک، سیسپلاتین و در نهایت گروه پروبیوتیک به همراه سیسپلاتین سیر رشد تومور شیب کاهشی یافته است(نمودار ۱ و ۲).



نمودار۱: نمودار سیر رشد در گروه‌های مورد مطالعه(MEN±SEM)



نمودار۲: مقایسه درصد رشد تومور از روز ۲۶ تا ۳۷ ام نسبت به روز ۱۶ ام

آزمایش بین گروه‌های مورد مطالعه حروف هم نام با هم اختلاف معنی‌دار از نظر آماری ندارند.

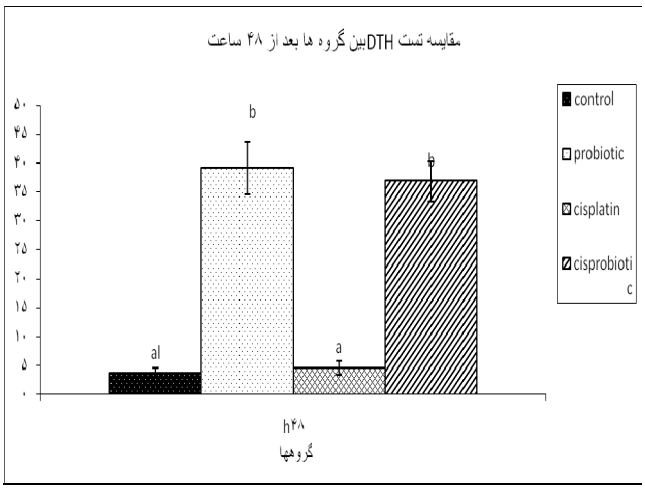
درصد رشد تومور با فرمول ذکر شده محاسبه شد. نتایج نشان داد که گروه دریافت کننده لاکتوباسیلوس میزان رشد کمتری نسبت به گروه کنترل داشت. کمترین میزان درصد رشد در گروه پروبیوتیک وسیس پلاتین(گروه چهارم) حاصل شده است.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-09-12]

در نمودار ۲ مقایسه درصد رشد تومور از روز ۲۶ام تا ۳۷ام نسبت به روز ۱۶ام آزمایش بین گروه‌های مورد مطالعه نشان داده شده است. همان طور که در نمودار ۲ دیده می‌شود به غیر از روزهای ۲۶ و ۲۷ در باقی روزها اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار هستند. در واقع اثرات مهاری باکتری تجویز شده به کاهش رشد بیشتر تومور به همراه تجویز دارو منجر شده است.

نتایج بررسی میزان التهاب ناشی از DTH:

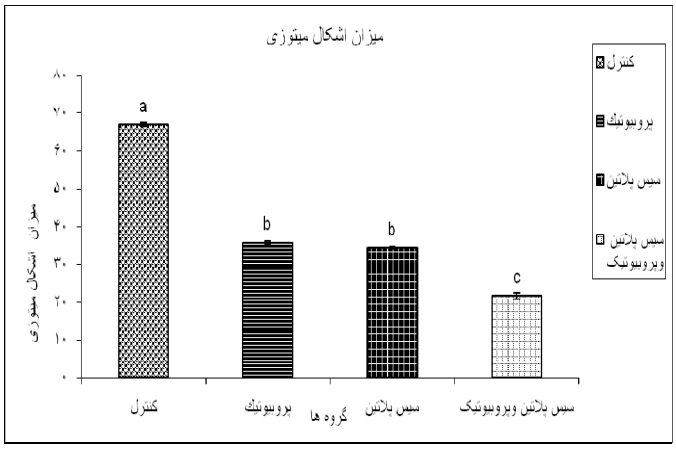
طبق نتایج بدست آمده التهاب در گروه دریافت کننده باکتری مشهود بود که حداکثر میزان التهاب بعد ۴۸ ساعت اندازه‌گیری گردید و بعد از ۷۲ ساعت به میزان قبلی خود کاهش یافت. نتایج به دست آمده نشان داد که در گروه‌های دریافت کننده باکتری، ۴۸ ساعت پس از تزریق اختلاف قابل توجهی نسبت به گروه‌های دیگر وجود داشت و بیشترین میزان افزایش در گروهی بدست آمد که لاکتوباسیلوس رامنوسوس دریافت کرده بود(نمودار۳). این تست در واقع بیانگر تحریک سلول‌های Th1 است که می‌توان این نتیجه را از پروبیوتیک بر کارامدی بیشتر پاسخ‌های ایمنی و وضعیت دفاعی بدن در مقابل تومور دانست.



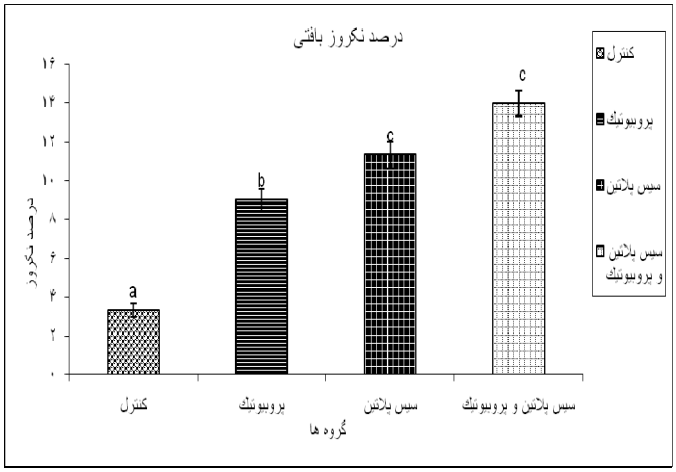
نمودار ۳: مقایسه درصد میزان التهاب حاصل از تزریق آنتی ژن اختصاصی توموری در ۴۸ ساعت بعد از تزریق(حروف هم نام با هم اختلاف معنیدار از نظر آماری ندارند).

نتایج هیستوپاتولوژی بافت تومور در گروه‌ها:

نتایج نشان دهنده افزایش معنی‌دار میزان نکروز داخل تومور در اثر تقویت پاسخ‌های ضد توموری در گروه گیرنده پروبیوتیک رامنوسوس در مقایسه با گروه کنترل بود. همچنین ارتشاح سلول‌های دفاعی وکاهش اشکال فعال میتوزی و افزایش میزان نکروز بافتی در داخل بافت تومور گروه گیرنده پروبیوتیک مشاهده شد. با تزریق داروی سیس پلاتین نیز بافت تومور دچار نکروز سلولی و کاهش اشکال فعال میتوزی هسته‌ها شده بود که این تغییرات با اضافه شدن تجویز لاکتوباسیلوس رامنوسوس (گروه ۴) بیشتر مشهود بود. آنالیز داده‌های پاتولوژیک بر اساس میزان کاهش اشکال فعال میتوزی و افزایش میزان نکروز در شکل نشان داده شده است(نمودار ۴ و ۵)(شکل۲).



نمودار ۴: مقایسه درصد اشکال فعال میتوز بافت توموری در گرو ه‌های مورد مطالعه (حروف هم نام با هم اختلاف معنی دار از نظر آماری ندارند).



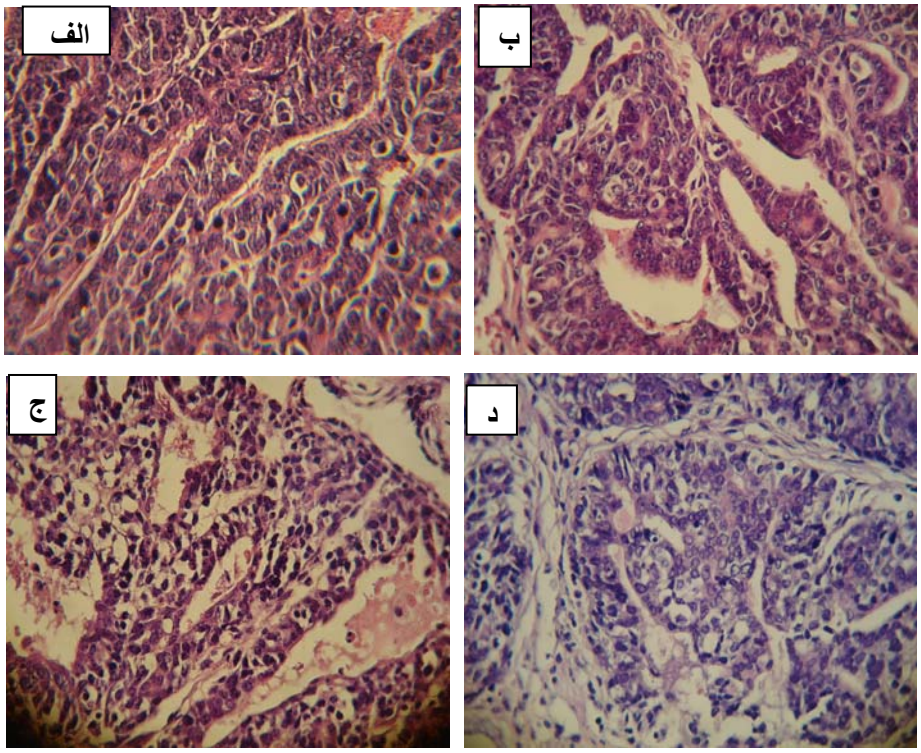
نمودار ۵: مقایسه درصد نکروز بافت توموری در گروههای مورد مطالعه(حروف هم نام با هم اختلاف معنی دار از نظر آماری ندارند).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-09-12]

نتایج اشکال فعال میتوزی:

تقسیمات میتوزی در سلول‌های فعال سرطانی با سلول‌های نرمال به خاطر تغییراتی که در ژن صورت گرفته کامل متفاوت است. هسته‌ها در مرحله پروفاز به صورت کلوخ مانند و در اشکال متفاوت خاصی قرار می‌گیرند. هستک شدیداً فعال بوده و کل فضای هسته را اشغال می‌کنند و این یکی از نشانه‌هایی است که می‌توان از آن به نفع بدخیمی نام برد.

نتایج نشان داد که اشکال میتوزی در گروه‌های دریافت کننده لاکتوباسیلوس رامنوسوس و دریافت کننده سیس پلاتین نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. این اختلاف بین گروه کنترل با سه گروه بعدی و همچنین بین گروه پروبیوتیک وپروبیوتیک+ سیسپلاتین و بین گروه سیس پلاتین و (پروبیوتیک +سیس پلاتین) معنی‌دار بود($p<۰/۰۵$).



شکل ۲: تغییرات موفولوژیک بافت توموری در چهار گروه مورد مطالعه: الف) گروه کنترل: تقسیمات منظم و صفحه‌ای سلول‌های سرطانی مشاهده می‌شود. ب)گروه دریافت کننده لاکتوباسیلوس رامنوسوس: تقسیمات و هسته‌های میتوتیک کمتر شده است. ج) گروه دریافت کننده داروی سیسپلاتین: هسته‌های نکروز شده ناشی از اثر دارو مشاهده می‌گردد د)گروه دریافت کننده لاکتوباسیلوس و سیسپلاتین: نکروز هسته‌ها به همراه کاهش هسته‌های فعال میتوزی(400 x H&E) مشخص است.

نتایج میزان نکروز بافتی:

نکروز علامت مرگ سلولی است که در آن هسته کاملاً فشرده شده و سیتوپلاسم سلول نیز کاملا تحلیل رفته است و هسته به صورت گرد و حاشیه صاف و جمع شده دیده می‌شود. این حالت در سلول‌های سرطانی نشان دهنده از بین رفتن سلول سرطانی و بیانگر درمان می‌باشد. نتایج بدست آمده نشان داد که تجویز باکتری رامنوسوس باعث افزایش نکروز سلول‌های سرطانی می‌شود که این اثر نکروزی در گروه‌های دریافت کننده سیس پلاتین و همچنین تجویز هم زمان لاکتوباسیلوس و سیس پلاتین نیز وجود داشت. اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل با گروه های دیگر مطالعه دیده شد($p<۰/۰۵$).

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، مصرف لاکتوباسیلوس رامنوسوس به صورت خوراکی توانسته است سیر رشد توموری و درصد

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-09-12]

رشد توموری را نسبت به گروه کنترل کاهش دهد. اثر آنتی توموری باکتری رامنوسوس در مطالعه بافت تومور و مورفولوژی سلول‌های توموری نیز تاییدی بر اثرات مهاری بر رشد سلول‌های سرطانی می‌باشد، به نحوی که باعث کاهش اشکال فعال میتوزی که یک فاکتور بارز بافت سرطان محسوب می‌شود و از طرفی، نکروز سلول‌ها نیز با مصرف این پروبیوتیک افزایش می‌یابد است. طبق مطالعات انجام شده، این اثرات آنتی‌توموری می‌توانند در ارتباط با تحریک سیستم ایمنی باشد. نتایج به دست آمده در تست DTH نشان داد که گروه‌های دریافت کننده پروبیوتیک نسبت به گروه‌هایی که لاکتوباسیلوس دریافت نکرده بودند افزایش التهابی معنی‌داری را داشتند و این افزایش میزان التهاب موضعی در تست DTH در موش‌های گیرنده پروبیوتیک می‌تواند نشان‌دهنده فعالیت بیشتر سلول‌های Th1 در موش‌ها باشد. در واقع در این تست بدن در مقابل آنتی‌ژنی قرار می‌گیرد که قبلاً با آن در تماس بوده است و این در واقع یک پاسخ ثانویه ناشی از عملکرد سلول‌های Th1 خاطره‌ای می‌باشد که این التهاب کمی پس از تماس دوباره با آنتی‌ژن آغاز شده و ۴۸ ساعت بعد از تماس به حداکثر التهاب خود رسیده و در ۷۲ ساعت التهاب فروکش می‌کند و این موضوع دلالت بر تقویت پاسخ سیستم ایمنی سلولی وابسته به لنفوسیت‌های Th1 می‌باشد. برطبق 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، می‌توان این نتیجه را از پروبیوتیک بر کارامدی بیشتر پاسخ‌های ایمنی و وضعیت دفاعی بدن در مقابل تومور دانست.

در راستای مطالعه حاضر، استفاده از باکتری باسیلوس رامنوسوس HNOOI در مدل‌های حیوانی نشان داده است که این باکتری می‌تواند یک عامل محرک سیستم ایمنی باشد و پاسخ‌های ایمنی مربوط به T-Helper را در جهت تقویت سیستم ایمنی پیش برد(۱۱). Lee و همکارانش در سال ۲۰۰۴ در مطالعه‌ای افزایش تعدادی از T cellها و NKcellها و MHCII، CD4 و CD8 را در اثر تجویز لاکتوباسیلوس‌ها بررسی کردند و بیان کردند که پروبیوتیک‌ها با اثر مستقیم خود در روده و با تحریک پلاک‌های پیر(Prayer plaque) موجود در روده باعث تعدیل سیستم ایمنی موضعی می‌شود و در ضمن می‌توانند بر سلول‌های دندریتیک موجود در سلول‌های دیواره‌ای روده تاثیر گذارده و در نهایت منجر به تولید و تکثیر سایر سلول‌های دخیل در سیستم ایمنی از جمله سیتوکاین‌ها شوند، از میان سیتوکاین‌هایی که توسط پروبیوتیک‌ها در میزبان ترشح می‌یابد اینترفرون گاما واینترلوکین ۱۲ است که باعث افزایش فعالیت NK cellها و ماکروفاژها می‌شوند(۱۲).

در برخی مطالعات نیز گزارش شده است که لاکتو باسیلوس رامنوسوس به تنهایی یا در ترکیب با سایر باکتری‌ها یا عوامل پروبیوتیکی قادر است اثرات ضد تولید سرطان داشته و ضمن تقویت سیستم ایمنی در مبارزه با تومور، قادر است در استفاده مداوم باعث عدم تولید سلول‌های توموری گردد که مطابق با نتیجه این تحقیق می‌باشد(۱۳). در این مطالعه اثرات انتی توموری باکتری لاکتوباسیلوس با ایجاد نکروز سلول های سرطانی و کاهش هسته های فعال میتوزی همراه بود که این نتایج با نتایج هیستوپاتولوژی بدست امده با گاواژ روزانه لاکتوباسیلوس کازئی در مطالعه انجام شده توسط سلطان دلال و همکارانش در سال ۱۳۸۹ نیز هم خوانی دارد(۱۴). افزایش نکروز در تزریق موضعی باکتری بیفیدوباکتریوم و افزایش نکروز بیشتری در زمان تجویز داخل صفاقی سیسپلاتین به همراه بیفیدوباکتریوم در آزمایش انجام گرفته توسط Hongying و همکارانش در سال ۲۰۰۸ نیز گزارش شده است (۱۵). در همین زمینه تحقیقات Goldin و همکاران و نیز در سال ۱۹۸۰ در مطالعه‌ای نشان دادند که رژیم غذایی حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس علاوه بر مهار کردن سرطان کولون ایجاد شده با DMH باعث افزایش بقا و طول عمر موش‌های مبتلا به این سرطان می‌شود. همچنین در مطالعه‌ای دیگر که باکتری بیفیدوباکتریوم لونگوم *B.* longum بکار برده شده بود نیز اثر مهاری بارزی را بر مدل‌های سرطانی کولون و همچنین اثر مهاری بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی داشت(۱۶).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-09-12]

با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه باید گفت می‌توان به نتایج رضایت بخش از انجام مطالعات انسانی با استفاده از این پروبیوتیک به عنوان درمان مکمل در درمان مبتلایان به این نوع سرطان در کنار درمان‌های معمول سرطان امیدوار بود و لیکن هنوز نیاز به مطالعات بیشتر برای شناخت مکانیسم‌ها و اثرات دقیق‌تر پروبیوتیک‌ها در مقابله با تومور وجود دارد.

منابع:

1- Willett W. ***The search for the causes of breast and colon cancer***. Nature1989; 338(6214): 389-94.

2- Jemal A, Marry T, Samuels A, Ghafoor A, Ward E, Thun MY. ***Cancer statistics***. CA Cancer J clin 2003; 53(1): 5-26.

3- ***Breast cancer facts & figures***. 2003-2004. Atlanta: American Cancer Society; 2003.

4- Watanabe K, Hess A, Bloch W, Michel O. ***Nitric oxide synthase inhibitor suppresses the ototoxic side effect of cisplatin in guinea pigs***. Anti Cancer Drugs 2000; 11(5): 401-6.

5- de Moreno de le Blanc A, Matar C, Thriault C, Perdigon G. ***Effects of milk fermented by Lactobacillus helveticus R389 on a murine breast cancer model***. Immunobiology 2005; 210(5): 349-58.

6- 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.

7- Kato I, Ohwaki M, Yokokura T, Mutai M. ***Hostmediated antitumor activity of Lactobacillus casei in mice.*** Gann 1984; 75: 72-80.

8- Feyzi R, Hassan ZM, Mostafaie A. ***Modulation of CD4 and CD8 tumor infiltrating lymphocytes by a fraction isolated from Shark cartilage.*** Shark cartilage modulates anti-tumor immunity. Int Immunopharmacol 2003; 3: 921-6.

9- SF. Matsuzaki T, Hashimoto S, Yokokura T. ***Effects on antitumor activity and cytokine production in the thoracic cavity by intrapleural administration of Lactobacillus casei in tumor-bearing mice.*** Med Microbiol Immunol 1996; 185: 157-61.

10- Cross ML. ***Immunoregulation by probiotic lactobacilli pro-Th1 signals and their relevance to human health.*** Clin Appl Immunol Reviews 2002; 3(3): 115-25.

11- Cross ML, Mortensen RR, Kudsk J, Gill HS. ***Dietary intake of Lactobacillus rhamnosus HNOO1 enhances production of both Th1 and Th2 cytokines in antigen-primed mice***. Med Microbiol Immunol 2002; 191(1): 49-53.

12- Lee JW, Shin JG, Kim EH, Kang HE, Yim IB, Kim JY, et al. ***Immunomodulatory and antitumor effects in vivoy the cytoplasmic fraction of Lactobacillus casei anBifidobacterium longum***. J Vet Sci 2004; 5(1):41-8.

13- Gorbach SL, Goldin BR. ***Nutrition and the gastrointestinal microflora.*** Nutr Rev 1992; 50: 378-81.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-09-12]

14- Soltan Dallal M, Yazdi M. ***Effect of oral administration of lactobacillus acidophilus on the immune responses and survival of BALB/c mice bearing human breast cancer.*** Tehran Unive Med Journal 2009; 67(11): 753-8.

15- Hongying H, Guangchao L, Yijun Q. ***Inhibitory activity of Bifidobacterium adolescent combined with cisplatin on melanoma in mice and its mechanism***. Front Med China 2008; 2(2): 186-90.

16- Goldin BR, Gorbach SL. ***Effect of Lactobacillus acidophilus dietary upplements on 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride-induced intestinal cancer in rats.*** J Natl Cancer Inst 1980; 64: 263-65.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-09-12]

Synergistic Inhibition of Lactobacillus Rhamnosus and Cisplatin on the Multiplication of Tumoral Cells in BALB/c Mice with Breast Cancer

Ghezelbash B(MSc)*[1], Mohammad Hassan Z(PhD)[2], Ghaderi Pakdel F(PhD)[3], Zare S(PhD)[4]

[1,4]*Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran*
[2]*Department of Immunology, School of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*
[3]*Department of Physiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.*

Received: 12 Dec 2010 ***Accepted:*** 29 Sep 2011

Abstract

Introduction: The probiotic strains of Lactic Acid Bacillus (LAB) not only affect gastrointestinal tract microflora and stimulate local immune system of this tract but also modify and stimulate systemic immunity by influence on lymph nodes and spleen. Several studies have shown the anti-tumor effect of these kinds of bacteria. This study was designed to assess the probiotic effects of lactobacillus rhamnosus on cisplatin efficacy among Balb/c mice with breast cancer.

Methods: *L. rhamnosus* strain was inoculated in MRS agar and cultivated for 24 h at 37 °C. Female Balb\C mice (n=20) with invasive ductal carcinoma transplantation were divided into four groups: Control, *L. rhamnosus*, cisplatin and cisplatin plus *L. rhamnosus*. Cisplatin (5 mg/kg, i.p.) was injected twice a week. *Lr* was administered daily by gastric intubation (3×10^{8} CFU/day). The tumor size was measured every 3 days and mice were sacrificed 24 h after the last injection and tumor tissue was removed for more tests.

Results: The results showed that oral administration of *L. rhamnosus* decreased the growth rate of tumor ($p<0.05$). One reason for antineoplastic effect of lactobacilli is immune system enhancement. The results of delayed-type hypersensitivity show the stimulation of immune system and inhibition of tumor growth by this mechanism. In pathologic assessments probiotic administration increased the antineoplastic effect of cisplatin.

Conclusion: According to the findings of this study it can be expected that human studies also show the satisfactory effect of lactobacillus administration besides common therapeutic methods for cancer treatment.

Keywords: Breast cancer, probiotic, Cisplatin, Inbred BALB C

This paper should be cited as:
Ghezelbash B, Mohammad Hassan Z, Ghaderi Pakdel F, Zare S.***Synergistic inhibition of lactobacillus rhamnosus and cisplatin on the multiplication of tumoral cells in BALB/C mice with breast cancer***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci; 19(5): 701-10.

Corresponding author: Tel: + 98 9144477762, Email: st_b.ghezelbash@urmia.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-09-12]