

● مقاله تحقیقی کد مقاله: ۰۶



اثرات لاکتوباسیلوس کازئی بعنوان پروبیوتیک بر روند رشد تومور در سرطان پستان موش BALB/c

چکیده

مقدمه: لاکتوباسیلوس ها رایجترین میکروارگانیسم های مورد استفاده بعنوان پروبیوتیک می باشند. خواص ضد توموری این دسته از باکتریها در مطالعات گوناگون نشان داده شده، این خواص احتمالا بدلیل وجود ویژگی تنظیم کننده سیستم ایمنی^۱ مربوط به این باکتریها می باشد. در مطالعه حاضر هدف بررسی اثرات لاکتوباسیلوس کازئی بعنوان پروبیوتیک بر روند رشد تومور و وضعیت موشهای مبتلا به سرطان پستان می باشد.

روش کار: تعداد ۱۸ سر موش ماده ۶ تا ۸ هفته ای با وزن تقریبی ۲۵-۳۰ گرم در شرایط یکسان بطور تصادفی در دو گروه تقسیم شدند که هرگروه شامل ۹ عدد موش بود. یکی از گروه ها بعنوان کنترل در نظر گرفته شد. موشهای گروه اول بمدت ۲ هفته قبل از توموری شدن روزانه به میزان نیم میلی لیتر سوسپانسیون لاکتوباسیلوس کازئی (2.7×10^8 CFU/ml) را دریافت کردند و بعد از توموری شدن هم با وقفه های ۳ روزه بصورت دوره های ۷ روزه لاکتوباسیلوس کازئی را دریافت نمودند. گروه دوم بعنوان گروه کنترل در تمام طول مطالعه با حجم یکسان و شرایط مساوی PBS دریافت کردند.

یافته ها: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در موشهای دریافت کننده پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی میزان پاسخ ازدیاد حساسیت تاخیری ۴۸ ساعته در تحریک مجدد با آنتی ژن اختصاصی تومور بیشتر از گروه کنترل دریافت کننده PBS بود که این موضوع از نشانه های تحریک سلولهای Th1 خاطره ای می باشد. علاوه براین سرعت رشد تومور نیز در موشهای گروه لاکتوباسیلوس کازئی کمتر از گروه کنترل بوده که بیانگر افزایش کارآمدی سیستم ایمنی این گروه از موشها در برابر تومور در مقایسه با گروه کنترل می باشد. همچنین نتایج هیستوپاتولوژی افزایش معنی دار نکروز داخل توموری در لام تهیه شده از تومور موشهای گیرنده پروبیوتیک نسبت به موشهای کنترل را نشان داد.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این مطالعه می توان گفت که مصرف روزانه لاکتوباسیلوس

محمد حسین یزدی^۱

دکتر محمد مهدی سلطان دلال^{۲*}

دکتر زهیر محمد حسن^۳

مرضیه هولاکویی^۴

ترانه پیمانیه عابدی محتسب^۵

سولمان آقا امیری^۱

مهدی مهدوی^۶

سونیا سید امیری^۵

۱. کارشناس ارشد میکروب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲. استاد میکروبیولوژی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳. دانشیار ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

۴. کارشناس ارشد ایمونولوژی مولکولی، انستیتو پاستور ایران

۵. کارشناس میکروبیولوژی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

۶. کارشناس ایمونولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

* نشانی نویسنده مسئول: تهران -

دانشکده بهداشت، بخش میکروب شناسی - دانشگاه علوم پزشکی تهران

تلفن: ۰۲۱-۶۶۴۶۲۲۶۸

دورنگار: ۰۲۱-۶۶۴۶۲۲۶۷

نشانی الکترونیکی:

soltanda@sina.tums.ac.ir

کازئی می تواند باعث تقویت پاسخ ایمنی علیه تومور شده و احتمالاً این پروبیوتیک می تواند بعنوان یک عامل حمایت کننده در درمان سرطان مطرح شود، با توجه به این موضوع، انجام مطالعات بیشتر و بررسی های دیگری جهت شناخت مکانیسم های دقیقتر این اثرات ضروری به نظر می رسد.

واژه گان کلیدی: پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس کازئی، رشد تومور، سرطان پستان

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۱/۲۵

تاریخ اصلاح نهایی: ۸۸/۵/۴

تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۱۲/۲۴

۱-Immunomodulatory

مقدمه

سرطان پستان یکی از شایعترین بد خیمی های زنان در جهان می باشد که از شیوع متفاوتی در بین ملل مختلف برخوردار است، بطوریکه بالاترین شیوع این بدخیمی مربوط به زنان سفید پوست در آمریکا و کمترین آن مربوط به زنان چینی و ژاپنی می باشد [۱]. در سال ۲۰۰۱ انجمن سرطان آمریکا ۱۹۲۲۰۰ مورد از این بیماری را گزارش نمود که بیانگر اهمیت این مساله می باشد. در سال ۲۰۰۳ در جامعه آمریکا ۳۹۸۰۰ نفر زن و ۴۰۰ نفر مرد به دلیل ابتلا به سرطان پستان جان خود را از دست دادند. بیشترین میزان این بیماری در کشورهای توسعه یافته اروپایی و شمال آمریکا بوده و بیشترین میزان مرگ و میر این دسته از سرطانها بین سنین ۴۰ تا ۵۰ سال مشاهده می شود. همچنین سالیانه ۱۴۰۰۰ مورد مرگ بر اثر این بیماری رخ می دهد [۲ و ۳]. همچنین سرطان پستان به عنوان دومین سرطان شایع در بین زنان ایرانی مطرح بوده و بر اساس گزارشات موجود میزان شیوع آن در کشور ما ۱۲۰ / ۱۰۰۰۰۰ می باشد که در مقایسه با برخی از کشورهای غربی، آمار بالاتری را به خود اختصاص می دهد [۴].

سرطان پستان یک بیماری پیچیده و دارای علائم کلینیکی مختلف و سرانجام های متفاوت می باشد و به نظر می رسد پاسخهای ایمنی نقش عمده ای در روند توسعه این بیماری دارند [۵]. بسیاری از مطالعات صورت گرفته بر روی بیماران مبتلا به سرطان پستان حاکی از کاهش پاسخ های ایمنی از جمله پاسخ افزایش حساسیت تاخیری، عملکرد سایتو لیتیک، کاهش تکثیر در سلولهای ایمنی و در نتیجه کاهش سایتوکائینها در اثر ابتلا به این سرطان می باشد [۶]. لذا استفاده از عواملی که موجب تقویت سیستم ایمنی می شوند در کنترل این سرطان نقش مهمی دارند. یکی از عوامل مطرح در تقویت سیستم ایمنی پروبیوتیک ها هستند. پروبیوتیک ها در حقیقت همان باکتریهای مفید در دستگاه گوارش بدن هستند که

دارای قابلیت های مختلفی هستند که یکی از مهمترین آنها ایجاد تعادل بین دستگاه گوارش و سیستم ایمنی بدن می باشد [۷]. در واقع پروبیوتیکها دسته ای از میکروارگانیسمها ی زنده هستند که در صورت مصرف به میزان معین، اثرات مفیدی را در سلامت مصرف کنندگان ایجاد می کنند [۸]. این میکروارگانیسم ها دارای اثرات تحریک کنندگی و تقویت کنندگی بر روی سیستم ایمنی می باشند، بطور مثال در مطالعه ای که روی موشهای مبتلا به نقص ایمنی صورت گرفت نقش پروبیوتیک ها به عنوان یک عامل موثر Immunomodulator در بهبود پاسخ ایمنی نشان داده شده است [۹]. امروزه لاکتوباسیلوس ها و بیفیدوباکتریوم ها بیشترین میکرو ارگانیسمها یی هستند که بعنوان پروبیوتیک کاربرد دارند. اثرات مفید گونه های مختلف این باکتریها در مطالعات مختلف نشان داده شده است با این حال این خواص از گونه ای به گونه دیگر متفاوت بوده و در مطالعات گوناگون محققین این خواص را اختصاصی گونه و سویه باکتری دانسته اند [۱۰]. از آنجا که برخی سویه های لاکتوباسیلوس اسیدو فیلوس و لاکتو باسیلوس کازئی در مطالعات گذشته به عنوان عوامل موثر در ممانعت از رشد تومورهای پیوندی در مدل های تجربی حیوانی شناخته شده اند [۱۱ و ۱۲] لذا هدف این مطالعه، بررسی اثرسویه جدید لاکتوباسیلوس کازئی ATCC39392 در تومورسرطان پستان ایجاد شده در مدل موش BALB/c می باشد.

مواد و روشها

میکروارگانیسم:

از کلکسیون قارچها و باکتری های ATCC ۳۹۳۹۲ سویه استاندارد لاکتوباسیلوس کازئی صنعتی و بیماریزی ایران تهیه شده و در محیط آگار MRS (Merck) کشت داده شد.



حیوانات آزمایشگاهی:

تعداد 18 عدد موش ماده BALB/c inbred با سن تقریباً ۶ تا ۸ 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) نگهداری شدند، ضمن اینکه در هر گروه به منظور جلوگیری از دست رفتن احتمالی موشها در حین مطالعه، ۲ موش اضافه در نظر گرفته شد. ضمناً موشها پس از انتقال به حیوان خانه بمدت یک هفته به منظور تطبیق با شرایط محیط جدید نگهداری شدند و پس از آن مطالعه روی آنها شروع شد.

گروهها و روش تجویز پروبیوتیک

دوز 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 ۳۷ درجه سانتی گراد کلنی های رشد کرده روی CFU جمع آوری شده و با روش رقت سازی (رایج در آزمایشگاهها) میزان 2×10^8 PBS محیط با از باکتری تهیه و روزانه نیم میلی لیتر از این محلول با استفاده از سوزن مخصوص گاوآژ به هر موش خوراندند، بجز گروه کنترل که به میزان مساوی PBS دریافت کردند. در واقع در این مطالعه ۲ گروه ۹ تایی موش وجود داشت که ۱۴ روز قبل از پیوند تومور به ترتیب گروه اول لاکتوباسیلوس کازئی و گروه دوم بعنوان گروه کنترل بصورت هم حجم PBS دریافت نمودند بعد از پیوند نیز موشها با وقفه های ۳ روزه و بصورت دوره های ۷ روزه متوالی بسته به گروه خود پروبیوتیک یا PBS دریافت نمودند و این روند تا پایان روز ۴۴ مطالعه ادامه یافت. (شکل ۱)

شکل ۱ تهیه دوز مناسب تجویز و نحوه

شمارش کلنی

در این شکل روش رایج در رقت سازی و شمارش کلنی نشان داده شده به این ترتیب که ابتدا کل کلنی های رشد کرده در محیط MRS آگار را توسط ۱ سی سی PBS جمع کرده و به لوله استریل منتقل کرده، سپس ۱ میکرولیتر از این سوسپانسیون را به لوله بعدی که حاوی ۹۹۹ میکرولیتر PBS می باشد منتقل می کنیم و به این ترتیب سوسپانسیون اصلی را 10^3 بار رقیق کرده ایم. این عمل را یکبار دیگر تکرار کرده و این بار رقت 10^3 را 1000 بار رقیقتر میکنیم سپس ۱۰۰ میکرولیتر از رقت 10^6 حاصل را روی محیط

MRS آگار کشت داده و ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه کرده، سپس تعداد کلنی های رشد کرده را شمارش می کنیم. در اینجا کلنی های رشد کرده از ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون 10^6 برابر ۲۷۰ عدد بود که با محاسبات ریاضی می توان آنرا معادل 2.7×10^8 در نظر گرفت.

توموری نمودن موشها:

پس از تأیید موش توموری مدل سرطان خودبه خودی (Spontaneous) پستان توسط دکتر حسن و همکارانش، موش را نخاعی نموده و تومور بصورت استریل از بدن آن خارج و در نرمال سالین استریل با اسکالپل و تیغ جراحی به قطعات ۵ میلی متر مکعبی تقسیم شد، سپس هر کدام از موشها با تزریق داخل صفاقی کتامین/زایلین (با دوز ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم از وزن بدن) بیهوش شده و قطعات تقسیم شده تومور با روش جراحی در زیر پوست ناحیه فلانک راست آنها پیوند زده شد و جای جراحی با کلیپس مخصوص بخیه زده شد. حدود یک هفته بعد از پیوند رشد تومورها با چشم قابل دیدن بود.

اندازه گیری سیر رشد تومور در موشهای توموری:

بدین منظور یک هفته پس از توموری نمودن موش ها که قطر تومور آنها حدود ۵ میلی متر بود حجم تومور در دو جهت طول و عرض اندازه گیری شده و این عمل هر هفته دوبار تا انتهای کار با استفاده از کولیس ورنیه صورت گرفت و سپس حجم تومور با فرمول عرض $\times$ طول $\times \frac{1}{2}$ محاسبه گردید.

بررسی و محاسبه حجم نهایی تومور در موش های

توموری:

جهت بررسی تغییرات مربوط به حجم تومور پس از پیوند و قبل از آغاز تجویز دوباره پروبیوتیک به موش ها حجم تومور با روش اندازه گیری گفته شده در بالا با استفاده از کولیس ورنیه مورد بررسی قرار گرفت ارزیابی حجم تومور هر هفته دوبار انجام شد و این عمل تا یک هفته پس از آخرین تجویز نیز ادامه یافت. بررسی وضعیت حجم تومور براساس درصد افزایش حجم تومور با فرمول مقابل محاسبه گردید.

حجم تومور در روز آخر

$\times 100$

حجم تومور در روز صفر

دو بار در هفته تا انتهای کار با استفاده از کولیس ورنیه صورت گرفت و سپس حجم تومور با فرمول ذکر شده در قسمت مواد و روشها محاسبه گردید.

نتایج بررسی میزان التهاب ناشی از DTH در ۴۸

ساعت:

پس از تهیه آنتی ژن اختصاصی از بافت توموری یک موش مبتلا به آدنو کارسینومای پستان با روش سونیکشن و دیالیز و تخلیص، این آنتی ژن در پای چپ موشهای سرطانی گیرنده لاکتوباسیلوس و PBS تزریق شد و برای کنترل از تزریق PBS تنها در پای راست آنها استفاده شد. طبق نتایج بدست آمده از این تست در ۴۸ ساعت پس از تزریق آنتی ژن اختلاف قابل توجهی در التهاب موضعی پای چپ موشهای گیرنده پروبیوتیک در مقایسه با موشهای گروه کنترل وجود داشت ($P < 0.001$). (شکل ۳).

شکل ۳ نتایج بررسی میزان التهاب ناشی از DTH در

۴۸ ساعت:

در ابتدا میزان ۲۰ میکرو لیتر از آنتی ژن اختصاصی تومور (تهیه شده از تومور اصلی) را در کف پای چپ و ۲۰ میکرو لیتر PBS را در کف پای راست هر موش از موشهای هر دو گروه پروبیوتیک و کنترل تزریق کرده و سپس قطر التهاب ناحیه تزریق در ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد با استفاده از کولیس ورنیه ثبت شد. نتایج در گروه گیرنده پروبیوتیک در ۴۸ ساعت پس از تزریق دارای اختلاف قابل توجهی نسبت به گروه کنترل می باشد ($P < 0.001$).

نتایج هیستوپاتولوژی بافت تومور در

دو گروه

پس از پایان دوره مطالعه، بافت توموری از بدن هر یک از موشها جدا و در فرمالین ۳۷٪ فیکس و طبق روش کار معمول در آزمایشگاههای پاتولوژی از آنها لام میکروسکوپی تهیه و با رنگ آمیزی H&E (هماتوکسیلین-ائوزین) رنگ شده و نتایج میزان نکروز داخل بافت توموری بررسی شد. این نتایج نشان دهنده افزایش معنی دار ($P < 0.005$) میزان نکروز داخل تومور در اثر تقویت پاسخهای ضد توموری در گروه گیرنده پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی در مقایسه با گروه کنترل بود همچنین ارتشاح سلولهای دفاعی و تشکیل Giant cell ها و هیستوسیت ها در

بررسی میزان التهاب ناشی از DTH:

ابتدا به میزان ۲۰ میکرو لیتر از آنتی ژن اختصاصی تومور (تهیه شده از تومور اصلی) را در کف پای چپ و ۲۰ میکرو لیتر PBS را در کف پای راست هر موش از موشهای هر دو گروه پروبیوتیک و کنترل تزریق کرده و سپس قطر التهاب ناحیه تزریق در ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد با استفاده از کولیس ورنیه ثبت شد و با استفاده از فرمول مقابل نتایج بررسی گردید.

قطر پای راست - قطر پای چپ

× ۱۰۰

قطر پای راست

تهیه بافت توموری فیکس شده و بررسی های

پاتولوژیک:

بدین منظور پس از کشتن موشهای هر گروه در پایان روز ۴۴ مطالعه قطعات ۵ میلیمتری از بافت تومور تهیه و در فرمالین ۳۷٪ بمدت ۶ ساعت فیکس و برای تهیه لام پاتولوژی و بررسی میزان نکروز داخل توموری به آزمایشگاه پاتولوژی بیمارستان بقیه ... ارسال گردید.

آنالیز آماری

برای آنالیز آماری نمونه ها از آزمون t-Test استفاده شد و داده ها با نرم افزار SPSS (ver. 13) بررسی و معنی داری داده ها ۰/۰۵α در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج سیر رشد و حجم نهایی تومور:

نتایج حجم تومور نشان دهنده پایین تر بودن حجم نهایی تومور در موشهای گیرنده پروبیوتیک در مقایسه با گروه کنترل یا گیرنده PBS بود (شکل ۲). در واقع نتایج در گروه لاکتوباسیلوس کازئی نشان داد که سرعت رشد تومور در موشهای گیرنده این پروبیوتیک نسبت به گروه کنترل کمتر می باشد که احتمالاً این پدیده ناشی از اثر تقویت کننده گی لاکتوباسیلوس کازئی بر سیستم ایمنی این گروه از موشها در مقابله با این تومور می باشد ($P < 0.001$).

شکل ۲ بررسی حجم نهایی تومور:

حجم تومور در دو جهت طول و عرض اندازه گیری شده و این عمل



داخل بافت تومور گروه گیرنده پروبیوتیک بیشتر می باشد. آنالیز داده های پاتولوژی بر اساس میزان نکروز در شکل ۴ و عکس لامها در شکل ۵ مشاهده می شود.

شکل ۴ نتایج میزان نکروز داخل توموری :

نتایج پاتولوژی بیانگر افزایش معنی دار ($P < 0.005$) میزان نکروز داخل توموری در گروه گیرنده لاکتوباسیلوس کازئی نسبت به گروه کنترل می باشد که عکس های موجود در شکل ۵ میزان نکروز را نشان میدهد.

شکل ۵ نتایج هیستوپاتولوژی:

لامهای پاتولوژی بر اساس روش رایج در آزمایشگاههای پاتولوژی از بافت تومور فیکس شده در فرمالین ۳۷٪ تهیه و با رنگ آمیزی H&E رنگ گردید. A: در این عکس قسمتهای مشخص شده با دایره نشان دهنده رگ های اطراف تومور هستند که داخل آنها از RBC پر شده که در گروه کنترل بیشتر به چشم می آیند و وظیفه آنها خونرسانی و تغذیه سلولهای توموری می باشد ضمناً ناحیه نکروز شده (منطقه مشخص شده با کادر مستطیل) و ارتشاح سلولهای ایمنی و تشکیل Giant cell ها در مقایسه با گروه گیرنده پروبیوتیک بسیار کمتر می باشد. B: در این عکس منطقه نکروز شده داخل تومور با ارتشاح سلولهای هیستوسیتی در گروه پروبیوتیک دیده می شود که در مقایسه با گروه کنترل منطقه نکروز شده در گروه گیرنده پروبیوتیک وسیعتر می باشد و تعداد سلولهای هیستوسیت و تشکیل giant cell ها که مسئول پاکسازی بقایای موجود از عملکرد سائتولیز سلولهای توموری توسط سلولهای ایمنی می باشند در این گروه بیشتر است. همچنین رگزایی در اطراف تومور در این گروه بسیار کمتر به چشم می خورد. C: در این عکس رشد سلولهای توموری و رگ های اطراف آن دیده می شود. D: در این عکس تشکیل Giant cell ها و هیستوسیت ها و منظره نکروز سلولهای توموری با بزرگنمایی بیشتر دیده می شود.

بحث

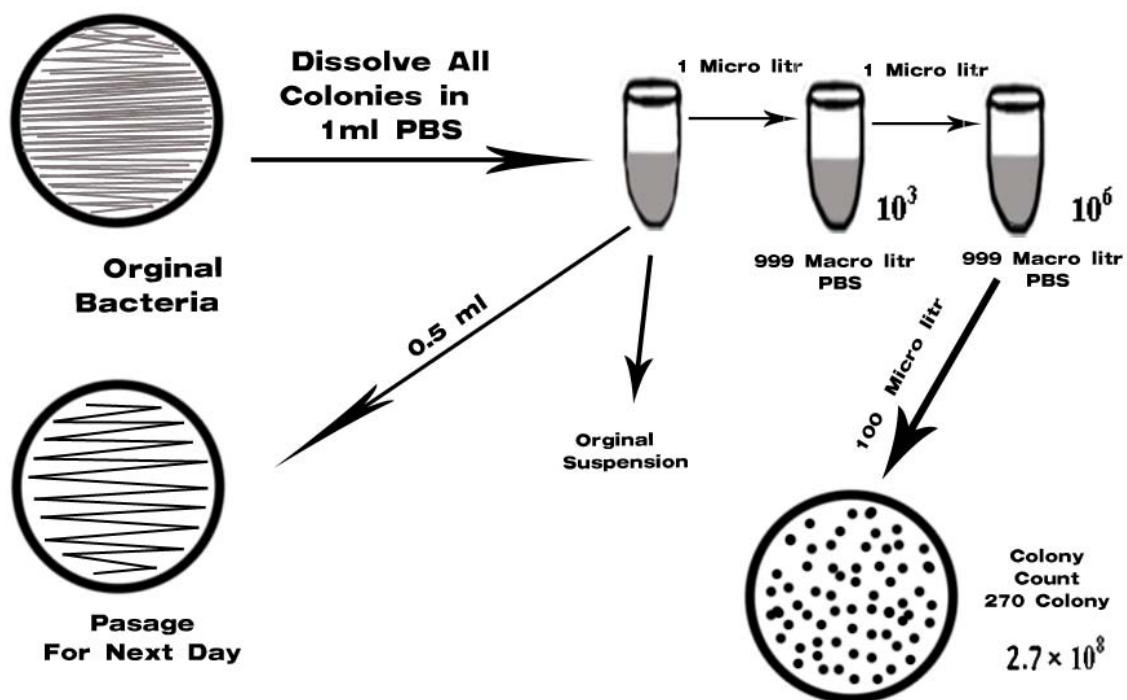
سرطان پستان بعنوان یکی از شایعترین بد خیمی های زنان در سراسر جهان بسیار مورد توجه می باشد [۱]. بسیاری از مطالعات صورت گرفته روی بیماران مبتلا به سرطان پستان حاکی از کاهش پاسخ های ایمنی از جمله پاسخ افزایش حساسیت تاخیری، عملکرد سائتولیتیک، کاهش تکثیر در سلولهای ایمنی و در نتیجه کاهش سائتوکائینها در اثر ابتلا به این سرطان می باشد که در حقیقت بیانگر

یک وضعیت ایمنو ساپرن می باشد [۶]. بنابراین در چنین شرایطی استفاده از عوامل تقویت کننده سیستم ایمنی می تواند در تعیین پیش آگهی بهتر در این سرطان بسیار کمک کننده باشد. باکتریهای خانواده لاکتوباسیل به طور رایج بعنوان پروبیوتیک در ماست و سایر لبنیات استفاده می شوند. ویژه گیهای تنظیم کننده گی و تحریک کننده گی این باکتریها بر روی سیستم ایمنی میزبان به خوبی در مطالعات گذشته مشخص گردیده است [۷و۸]. در واقع این دسته از باکتری ها دارای تاثیرات مثبت زیادی در بدن هستند که از آن جمله می توان به جلوگیری از کارسینوژنیز و رشد تومور اشاره کرد [۱۳]. یکی از مسائلی که در مورد لاکتوباسیلوسها و وجود آنها به عنوان فلور گوارشی در انسان و بسیاری از حیوانات مطرح می باشد این است که خواص تقویتی و تحریکی این عوامل فقط محدود به ایمنی مخاطی نبوده بلکه این باکتریها میتوانند با مکانیسم های مختلف سیگنالهای لازم جهت تحریک و تقویت سیستم ایمنی مرکزی را نیز مخابره کنند و در این رابطه گزارشات زیادی مبنی بر کاربرد این عوامل در مقابله با عفونتهای مختلف، سرطانها و سایر ناهنجاری های ایمنولوژیک وجود دارد [۱۴]. در مطالعات گذشته نشان داده شده که سائتوکائینهای القائی بواسطه لاکتوباسیل ها دارای نقش عمده ای در القا خواص تنظیم کننده گی این عوامل بر روی سیستم ایمنی هستند [۱۵]. بر طبق 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 لنفوسیت های Th1، سلولهای T سائتو توکسیک و دیگر مکانیسم های سائتولیز سلولهای توموری از جمله فعالیت سلولهای NK می باشد، می توان این برداشت را از اثر پروبیوتیک بر کارآمدی بیشتر پاسخهای ایمنی و وضعیت دفاعی بدن در مقابل تومور داشت که افزایش میزان التهاب موضعی در تست DTH در موشهای گیرنده پروبیوتیک می تواند دلیلی بر فعالیت بیشتر سلولهای Th1 در موشها باشد چرا که پاسخ افزایش حساسیت تاخیری DTH نسبت به آنتی ژنی که بدن در ابتدا با آن مواجه بوده و پس از مدتی دوباره با آن برخورد می کند در واقع یک نوع پاسخ ثانویه ناشی از عملکرد سلولهای Th1 خاطره ای می باشد که این التهاب کمی پس از تماس دوباره با آنتی ژن آغاز شده و معمولاً در ۴۸ ساعت به اوج رسیده و پس از ۷۲ ساعت فرو کش می نماید [۱۶]. همچنین به نظر می رسد تاثیر تجویز پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی بر افزایش التهاب موضعی علیه آنتی ژن اختصاصی تومور ناشی تقویت پاسخ ایمنی سلولی وابسته به لنفوسیت های Th1 می باشد. در مورد نتایج بدست آمده از بررسی های پاتولوژی باید گفت که صرف نظر از نکروز ایجاد شده در مرکز تومور در اثر رشد در اطراف و ایسکمی در مرکز بافت توموری (این

تجویز لاکتوباسیلوس کازئی باشد. با توجه به مجموعه نتایج این مطالعه باید گفت می توان به نتایج رضایت بخش از انجام مطالعات انسانی با استفاده از این پروبیوتیک در تقویت سیستم ایمنی مبتلایان به این نوع سرطان امیدوار بود، ولیکن هنوز هم نیاز به مطالعات بیشتر برای شناخت دیگر مکانیسمها و اثرات دقیقتر پروبیوتیکها بر پاسخهای ایمنی در مقابله با تومورها وجود دارد.

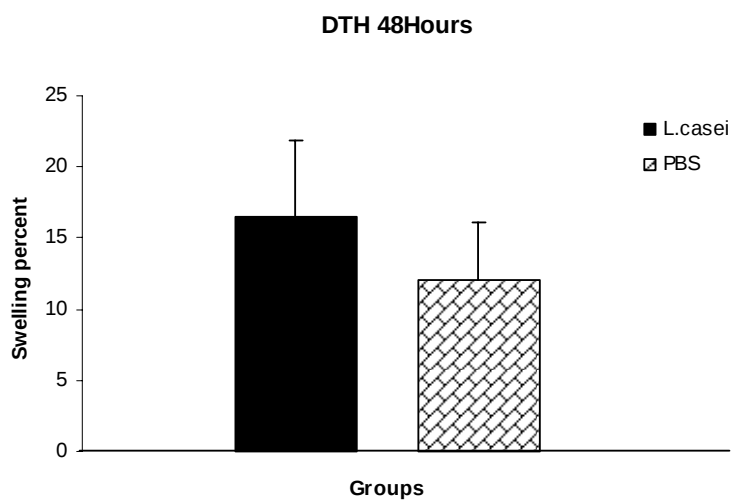
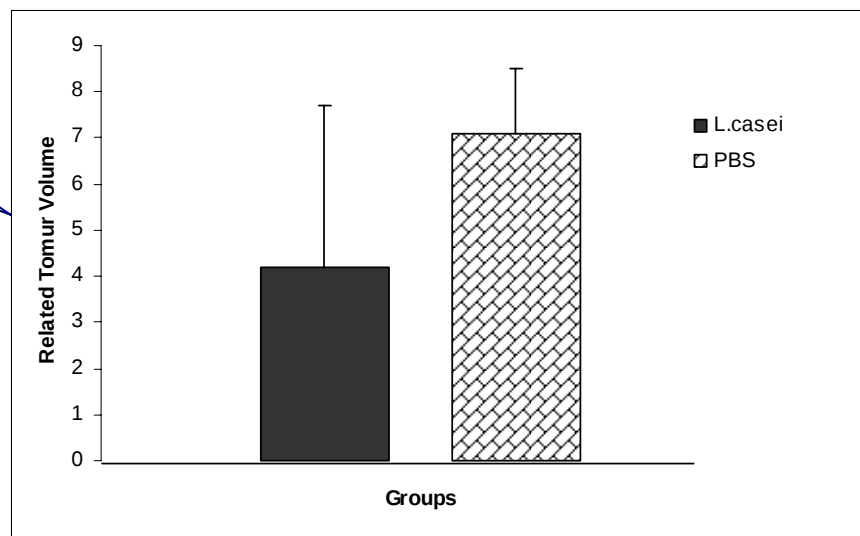
تقدیر و تشکر: این تحقیق بعنوان بخشی از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد آقای محم حسین یزدی در بخش میکروب شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد و بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه بدلیل حمایتهای مادی و معنوی از این طرح تقدیر و تشکر بعمل می آید.

مورد در آنالیز داده های پاتولوژی حذف شد) ، میزان نکروز ناشی از عملکرد سلولهای دفاعی بدن در بافت تومور موشهای گیرنده لاکتوباسیلوس کازئی بطور چشمگیری بیشتر از موشهای کنترل بود. بعلاوه ارتشاح سلولهای ایمنی از جمله لنفوسیتها و سلولهای پلی مورفونوکلئر در داخل تومور موشهای گیرنده پروبیوتیک نیز حاکی از تقویت عملکرد سیستم ایمنی در این موشها بود که در عکس های بالا وجود هیستوسیتها و تشکیل Giant cell ها و ماکروفاژهای کف آلود در گروه گیرنده پروبیوتیک (عکسهای C,D) تائیدی بر این ادعا می باشد. همچنین داده های مربوط به حجم نهایی تومور بیانگر کاهش قابل توجه حجم تومور در موشهای گیرنده پروبیوتیک می باشد که این نیز می تواند تائیدی بر فعال شدن و کارآمدی سیستم ایمنی در مقابله با تومور و جلوگیری از رشد آن در نتیجه



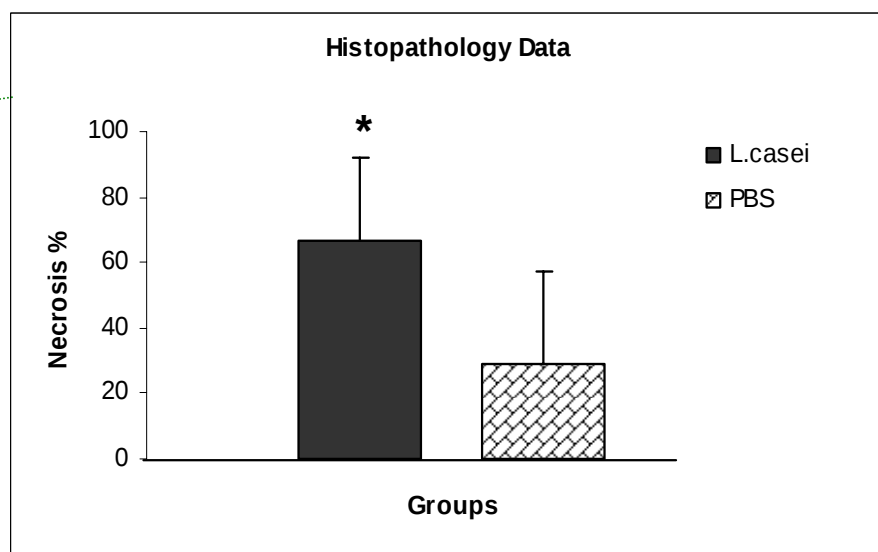
شکل ۱ تهیه دوز مناسب تجویز و نحوه شمارش کلنی

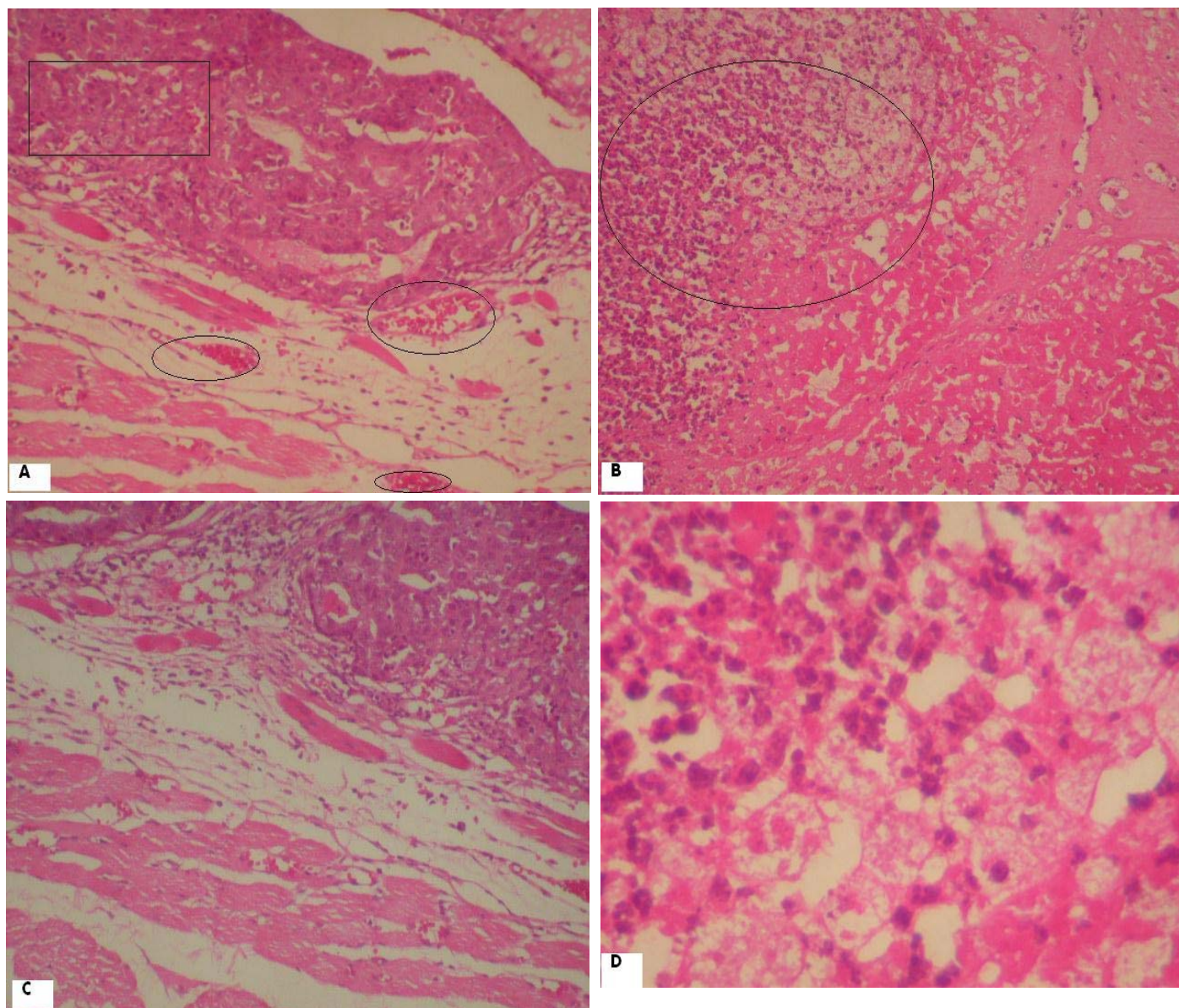
شکل ۲ بررسی
حجم نهایی تومور



شکل ۳ نتایج بررسی
میزان التهاب ناشی از
DTH در ۴۸ ساعت

شکل ۴ نتایج میزان
نکروز داخل توموری





شکل ۵ نتایج هیستوپاتولوژی

مراجع

- 1- Willett W. The search for the causes of breast and colon cancer. *Nature* 1989; 338(6214): 389-94.
- 2- Ahmedin J, Taylor M, Alicias . Cancer statistic. *Cancer journal for clinicians*. 2003; 53-26
- 3- Breast cancer facts&figures.American society,Inc.2003-2004
- 4- Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, et al. breast cancer in Iran: an epidemiological review. *Breast Journal* 2007; 13(4): 383-91.
- 5-. Stewart TH, Heppner GH . Immunological enhancement of breast cancer. *Parasitology* 1997; 115: 41-53.
- 6- Marrogi AJ, Munshi A, Merogi AJ, 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.
- 7- Drisko JA, Giles CK, Bischoff BJ. Probiotics in health maintenance and disease prevention. *Altem med Rev* 2003 ; 8(2): 143-55.
- 8- Schrezenmeir J , de Vrese M. Probiotics, prebiotics and synbiotics-Approaching a definition. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 362S-364S.
- 9- Bujalancel 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; 23-34.
- 10- Kirjavainen PV, El-Nezami HS, Salminen SJ, Ahokas JT, Wright FA. The effect of orally administered viable probiotic and dairy lactobacilli on mouse lymphocyte proliferation. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 26: 131-135.
- 11- 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.
- 12- McIntosh GH, Royle PJ, Playne MJ . A probiotic strain of L. acidophilus reduces DMH-induced large intestinal tumors in male Sprague-Dawley rats. *Nutr Cancer* 1999; 35(2): 153-9.
- 13- de Roos NM, Katan MB. Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(2): 405-11.
- 14- Perdigon G, Fuller R, Raya R. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. *Curr Issues Intest Microbiol* 2001; 2(1): 27-42.
15. Levings MK, Bacchetta R, Schulz U, Roncarolo MG. The role of IL-10 and TGF-beta in the differentiation and effector function of T regulatory cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 129(4): 263-76.
- 16- de Waard R, Garssen J, Snel J, Bokken GC, Sako T, Veld JH, Vos JG. Enhanced antigen-specific delayed-type hypersensitivity and immunoglobulin G2b responses after oral administration of viable Lactobacillus casei YIT9029 in Wistar and Brown Norway rats. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8(4):762-7.