

## بررسی اثر تجویز خوراکی لاکتوباسیلوس روتری در افزایش طول عمر و مقاومت به نئوپلاسم در موش‌های مبتلا به سرطان پستان

### چکیده

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۴/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۸/۰۷

**زمینه و هدف:** با توجه به گزارشات حاکی از ارتباط پروبیوتیک‌ها در افزایش مقاومت به نئوپلاسم، هدف این مطالعه بررسی اثر لاکتوباسیلوس روتری در ممانعت از رشد تومور، بهبود وزن و میزان بقا در موش‌های مبتلا به سرطان پستان است.

**روش بررسی:** ۲۰ موش ماده BALB/c شش هفته‌ای با وزن تقریبی ۱۷ گرم در دو گروه قرار گرفتند. گروه اول به مدت ۱۴ روز قبل از پیوند تومور، ۵۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون لاکتوباسیلوس روتری و گروه دوم (کنترل) به صورت هم حجم (PBS) Phosphate Buffer Saline دریافت نمودند. سپس موش‌ها با جراحی، توموری شده و پس از پیوند، گروه اول با دوره‌های تجویز هفت روزه و وقفه سه روزه، لاکتوباسیلوس روتری و گروه دوم BSP دریافت کردند. این روند تا روز ۴۵ مطالعه ادامه داشت. رشد تومور و وزن، در دو گروه اندازه‌گیری، و مرگ و میر موش‌ها ثبت و در نهایت بافت توموری در دو گروه جداسازی و بررسی شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد موش‌های توموری که پروبیوتیک به آن‌ها تجویز شده بود در مقایسه با گروه کنترل کاهش رشد تومور و افزایش در وزن بدن داشته‌اند ( $P > 0/05$ ). هم‌چنین بقای این موش‌ها نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری ( $P = 0/002$ ) داشته است. بررسی هیستولوژی بافت‌های توموری نیز حاکی از بهبود عملکرد سیستم ایمنی در موش‌های گیرنده پروبیوتیک بود ( $P > 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** بررسی‌ها نشان می‌دهند که لاکتوباسیلوس روتری در تقویت و بهبود عملکرد سیستم ایمنی و کمک به درمان افراد مبتلا به سرطان نقش به‌سزایی دارد.

**کلمات کلیدی:** پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس روتری، سرطان پستان، میزان بقا.

محمد مهدی سلطان دلال<sup>۱\*</sup>

لیلا شیرازی<sup>۲</sup>، محمد حسین یزدی<sup>۳</sup>

مهدی مهدوی<sup>۴</sup>، سلیمان مکرری<sup>۱</sup>

عباس رحیمی فروشانی<sup>۵</sup>

باباله قاسمی<sup>۶</sup>

ترانه پیمان‌ه عابدی محتسب<sup>۱</sup>

۱- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت

۲- مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی

۳- گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده

داروسازی

۱، ۲ و ۳- دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۴- گروه ویروس‌شناسی، انستیتو پاستور تهران،

تهران، ایران.

۵- گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت،

دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۶- گروه پاتولوژی، دانشکده علوم پزشکی تبریز،

تبریز، ایران.

\* نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران،

دانشکده بهداشت، گروه پاتوبیولوژی

تلفن: ۰۲۱-۸۸۹۹۲۹۷۱

E-mail: soltanirad34@yahoo.com

### مقدمه

به‌علت سرطان پستان می‌باشد.<sup>۳</sup> طبق گزارش‌های کشوری ثبت موارد سرطانی، این سرطان فراوان‌ترین نوع سرطان و مهم‌ترین عامل مرگ و میر به‌علت سرطان، در میان زنان ایران به‌حساب می‌آید،<sup>۴</sup> لذا به‌کار گرفتن عوامل کمک‌کننده در این زمینه بسیار جدی می‌نماید.

در اوایل سال ۱۹۹۰ میلادی مقالاتی در مورد میکروارگانسیم‌های غیرپاتوژنی منتشر شد که تأثیر مثبتی در سلامتی میزبان خود نشان می‌دادند اما به‌علت نبود مدارک کافی، پزشکان زیادی را از نظر سودمندی آن‌ها مردد می‌ساخت، اما در ۱۰ سال اخیر، فراوانی

سرطان (Cancer) اغلب در اندام‌های نرم و متخلخل (هم‌چون پستان) و اندام‌های عضلانی (هم‌چون رحم) پدید می‌آید، از این رو در زنان شایع‌تر از مردان است.<sup>۱</sup> سرطان پستان (Breast cancer) از قدیمی‌ترین اشکال شناخته شده است که کشف آن به ۱۶۰۰ سال قبل از میلاد مسیح می‌رسد.<sup>۲</sup> سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در خانم‌ها می‌باشد. بالاترین میزان مرگ و میر در اثر سرطان در خانم‌ها نیز

## روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی بوده که در سال ۱۳۹۰ در بخش میکروبی‌شناسی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت.

حیوانات آزمایشگاهی: برای انجام تحقیق حاضر، ۲۰ سر موش ماده‌ی BALB/c با محدوده‌ی سنی ۷-۶ هفته و وزن تقریبی ۱۹ تا ۲۰ گرم از انستیتو پاستور تهران خریداری شده و در حیوان خانه تحت شرایط کنترل شده و استاندارد (دمای  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ، رطوبت  $55 \pm 2\%$  با چرخه‌ی ۱۲ ساعته‌ی نور/ تاریکی و تغذیه استاندارد) نگهداری شده و بازه‌ی زمانی ۷۲ ساعته جهت سازگاری حیوان با شرایط و محیط جدید قبل از شروع مطالعه در نظر گرفته شد.

سوش باکتریایی: در مطالعه‌ی حاضر، سوش استاندارد لاکتوباسیلوس روتری (Persian Type Culture PTCC 1655 Collection) از کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و بیماری‌زای ایران تهیه شد. سپس کشت تازه از باکتری با رعایت شرایط استریل بر روی محیط (MRS) Agar (deMan-Rogosa-Sharpe) تهیه شده و به مدت یک شبانه‌روز در دمای  $37^\circ\text{C}$  و شرایط بی‌هوازی انکوبه شد. تهیه‌ی دوز مناسب تجویز: پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون باکتری در شرایط بی‌هوازی و دمای  $37^\circ\text{C}$  کلنی‌های رشد کرده در سطح محیط با Phosphate Buffered Saline (PBS) جمع‌آوری شده و سریال‌های رقت از آن تهیه شد. از میان کشت رقت‌ها Colony-Forming Units (CFU/ml)  $10^6 \times 2/6$  به‌عنوان دوز مناسب تجویز انتخاب گردید.

گروه‌ها و روند تجویز پروبیوتیک در آن‌ها: در این مطالعه از دو گروه آزمایشی استفاده شد که در هر گروه به‌صورت انتخاب‌های تصادفی تعداد ۱۰ سر موش قرار گرفت. گروه اول برای بررسی اثر لاکتوباسیلوس روتری بر روند رشد تومور و بهبود سیستم ایمنی، پروبیوتیک و گروه دوم به‌عنوان گروه کنترل PBS دریافت می‌کردند. روند تجویز روزانه به‌صورت ۱۴ روز قبل از پیوند تومور (متوالی) و ۳۰ روز پس از پیوند (توالی هفت روزه و وقفه‌های سه روزه) به حجم ۵۰۰ میکرولیتر از لاکتوباسیلوس روتری برای گروه اول و به همان حجم PBS برای گروه دوم با استفاده از سوزن مخصوص گاوآژ، به‌صورت گاوآژ داخل معده‌ای انجام شد (شکل ۱).

تحقیقات در زمینه‌ی این باکتری‌ها اثرات مفید آن‌ها را بیش از آن چه که تصور می‌شد به اثبات رساند.<sup>۵</sup> امروزه پروبیوتیک‌ها شهرتی جهانی یافته‌اند، طبق گزارش FAO/WHO باکتری‌های لاکتیک اسید (Lactic Acid Bacteria, LAB) به‌طور طبیعی ساکن لوله گوارشی انسان بوده و هم‌چنین دارای تاریخچه‌ی طولانی در فراورده‌های تخمیری هستند. علت مطرح بودن این باکتری‌ها اثرات مثبت آن‌ها در روند سلامتی افراد می‌باشد.<sup>۶</sup>

از آن جمله می‌توان به سرکوب کردن رشد پاتوژن‌ها، کاهش در احتمال ابتلا به سرطان، افزایش مقاومت به نئوپلاسم و کاهش سطح کلسترول خون اشاره کرد، از دیگر عملکردهای درمانی یا ارزش تغذیه‌ای باکتری‌های پروبیوتیک کمک به هضم لاکتوز، بهبود عملکرد سیستم ایمنی، سنتز انواع ویتامین‌ها و کمک به شرکت‌پذیری عناصر ضروری بدن در فعالیت‌های زیستی است.<sup>۷،۸</sup> از این رو می‌توان گفت که تجویز خوراکی باکتری‌های پروبیوتیک، علاوه بر اثر در فعالیت دستگاه گوارشی می‌تواند عملکرد سیستم‌های دیگر نقاط بدن را نیز تحت تأثیر قرار دهد. این بدین معنی است که تأثیر پروبیوتیک‌ها تنها مختص جایگاه تجویز آن‌ها نبوده و می‌تواند فراتر از آن بر فعالیت سایر ارگان‌ها و سیستم‌های بدن به‌خصوص سیستم ایمنی اثر بسیار مثبتی داشته باشد. توانایی مهاجرت سلول‌های B و T از پلاک‌های پی‌یر (Peyer's patches) و ظاهر شدن در مخاط روده‌ی باریک، مخاط مجاری تنفسی، مجاری ادراری- تناسلی و غدد ترشحی از جمله غدد اشک‌ساز و غدد بزاقی، غدد پستان و غده‌ی پروستات دلیلی بر اثبات این ادعاست. امروزه باکتری‌های لاکتیک اسید بیش‌ترین و معمول‌ترین میکروارگانیسم‌های مورد استفاده به‌عنوان پروبیوتیک محسوب می‌شوند که با شرکت در واکنش‌های بیولوژیکی سلامتی میزبان خود را افزایش می‌دهند. با وجود تأیید اثر پروبیوتیک‌ها بر مقاومت به نئوپلاسم‌ها، متأسفانه مطالعات اندکی در ارتباط با پروبیوتیک و سرطان پستان انجام گرفته است.<sup>۹،۱۰</sup>

در مقاله‌ی حاضر به نوعی از نئوپلاسم بافت پستان در موش‌های BALB/c پرداخته شده که توسط لاکتوباسیلوس روتری (*Lactobacillus reuteri*) ممانعت می‌شود. در واقع هدف از این تحقیق اثبات اثر مثبت لاکتوباسیلوس روتری در بهبود عملکرد سیستم ایمنی جهت افزایش بقا، کاهش حجم تومور پستان و جلوگیری از ابتلا به لاغری مفرد در مدل حیوانی موش است.



شکل ۱: شکل شماتیک از روند تجویز پروبیوتیک در گروه پروبیوتیک:

■ تغذیه با پروبیوتیک. □ پیوند تومور به موش ها. □ وقفه در تجویز پروبیوتیک. شروع تجویز پروبیوتیک. در شکل فوق، هر یک از مربعها نماد یک روز از مطالعه می باشد. موش های گروه کنترل نیز با همین روند PBS دریافت نمودند.

بررسی پاتولوژیکی بافت توموری: پس از پایان مطالعه، تعداد پنج موش از هر گروه به صورت تصادفی انتخاب شده و به روش نخاعی کردن کشته شدند. بافت توموری در شرایط استریل از بدن حیوان خارج شده و داخل ۴۰ میلی لیتر فرمالین ۱۰٪ جهت بررسی های هیستوپاتولوژیکی قرار داده شد. سپس قطعات پنج میلی متر مکعبی از آن ها تهیه شده و داخل قالب های پارافینی قرار داده شد. با استفاده از دستگاه میکروتوم سریال قطعات پارافینی چهار میکرومتری از آن ها تهیه و پس از رنگ آمیزی با هماتوکسیلین-ائوزین، لام ها جهت مشاهده میزبان نکروز، خون ریزی، رگ زایی، ادم و سایر تغییرات بافتی در زیر میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

بررسی طول عمر موش ها: تعداد پنج موش باقی مانده در هر گروه، جهت بررسی طول عمر تا فرا رسیدن مرگ طبیعی نگه داری شدند. برای این منظور پس از شماره گذاری شدن با اسید پیکریک (دارای نوعی رنگ زرد با ماندگاری طولانی بر روی بدن حیوان)، موش ها به قفس های مجزا انتقال داده شدند. هدف از این کار ممانعت از مرگ در اثر خورده شدن توسط موش های هم قفس بود.

پس از اتمام کار، داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS ویراست ۱۸ آنالیز آماری شده و ارزش کم تر از  $P < 0.05$  سطح معنی داری در نظر گرفته شد. تمام مراحل تجربی مربوط به حیوانات تصویب شده کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران بوده است.

## یافته ها

نتایج حاصل از توموری نمودن موش های BALB/c در شکل ۲ آورده شده است. به طور تقریبی هفت روز پس از پیوند، رشد تومور به طور واضح قابل رؤیت بود. پس از گذشت سه هفته از پیوند، تومور به حد اکثر رشد خود رسیده بود. رشد تومور در گروه کنترل به میزان قابل توجهی بیش تر از گروه پروبیوتیک بود. نتایج حاصل از

توموری نمودن موش ها: در روز پانزدهم از مطالعه بر روی هر دو گروه از موش ها پیوند تومور انجام شد. در این مرحله از موش توموری مدل سرطان خودبه خودی پستان به عنوان استوک (Stock) تومور استفاده شد که نوع سرطان با آزمایشات پاتولوژیک به اثبات رسیده بود. جهت پیوند، موش نخاعی شده و تومور از بدن حیوان خارج گردید و داخل نرمال سالین استریل به قطعات پنج میلی متر مکعبی تقسیم شد. پیوند به موش های سالم بدین صورت بود که پس از بی هوشی با تزریق داخل صفاقی محلول کتامین/زایلوزین با دوز تجویز ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم از وزن بدن، قطعات توموری به صورت جراحی در زیر پوست ناحیه ی پهلوی (Flank) راست انجام شده و با کلیپس مخصوص فلزی بخیه شد. برای ممانعت از عفونت در محل زخم جراحی، از پماد تتراسایکلین به صورت موضعی استفاده شد. با گذشت هفت روز از پیوند تومور، رشد تومورها به صورت چشمی قابل مشاهده بود.

اندازه گیری سیر رشد تومور: اندازه گیری روند رشد تومور در هر موش با احتساب اندازه ی اولیه ی تومور پیوند شده، پس از گذشت هفت روز از عمل پیوند انجام می شد. هر سه روز یکبار و تا انتهای کار، اندازه ی تومور با کولیس ورئیه ی دیجیتالی در دو جهت طول و عرض اندازه گیری و حجم تومور با استفاده از فرمول:

$$\text{"حجم"} = \text{عرض}^2 \times \text{طول} \times \frac{1}{4} \text{" محاسبه و ثبت شد.}$$

بررسی حجم نهایی تومور: پس از محاسبه ی حجم تومور در گروه ها در موعدهای مقرر شده، حجم نهایی تومور و درصد افزایش آن در هر موش با استفاده از فرمول:

$$\text{"حجم تومور در روز آخر"} - \text{حجم تومور در روز صفر} \times 100 \text{" محاسبه گردید.}$$

اندازه گیری وزن موش ها: وزن موش ها از روز صفر مطالعه تا پایان روز چهل و پنجم هر سه روز یکبار و با استفاده از ترازوی دیجیتالی با حساسیت سه رقم اعشار انجام می شد.

این معنی‌داری نشان می‌دهد که تجویز پروبیوتیک باعث بهبود وضعیت و وزن میزبان شده است.

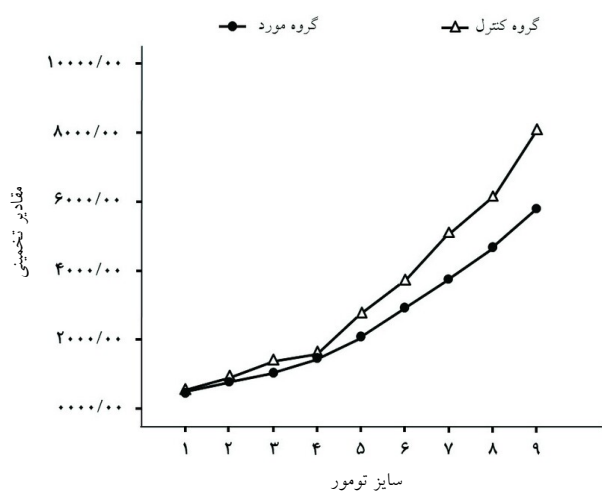
درصد نهایی حجم وزن بر طبق آن چه در نمودار ۴ آورده شده است نشان می‌دهد که گروه پروبیوتیک بر خلاف گروه کنترل دچار کاشکسی (لاغری مغرط) نشده‌اند ( $P=0/01$ ).

نتایج حاصل از بررسی طول عمر موش‌ها در دو گروه کنترل و پروبیوتیک در نمودار ۵ به صورت نمودار کاپلان مایر ارائه شده است که نتایج نشان می‌دهد بقای موش‌ها در گروه پروبیوتیک به نسبت گروه کنترل بالا می‌باشد ( $P=0/002$ ) این افزایش بقا در گروه پروبیوتیک در استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان عوامل درمانی بسیار امیدوارکننده به نظر می‌رسد.

نتایج حاصل از بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی بافت توموری در دو گروه کنترل و پروبیوتیک در شکل ۳ آورده شده است. بررسی‌ها نشان داد که در تمام نمونه‌های گروه پروبیوتیک، تجویز لاکتوباسیلوس روتری موجب مرگ سلول‌های توموری شده است. در نمونه‌های گروه کنترل نیز، سلول‌های در حال تقسیم، چرک، خون‌ریزی، رگ‌زایی، تهاجم سلول‌های توموری به بافت‌های هم‌بند و متاستاز به داخل رگ لنفی که همه نشان از بدخیمی دارد، گزارش

روند رشد تومور در دو گروه کنترل و دریافت‌کننده‌ی لاکتوباسیلوس روتری در نمودار ۱ ارائه شده است. نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد که تفاوت متغیر اندازه تومور در داخل هر گروه در سنجش‌های مکرر، با هم از نظر آماری معنی‌دار بوده ( $P<0/0001$ ) و هم‌چنین رشد تومور در گروه کنترل به نسبت گروه پروبیوتیک افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد ( $P=0/03$ ).

درصد حجم نهایی تومور نیز در نمودار ۲ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهند که میزان حجم نهایی تومور در گروه کنترل به نسبت گروه پروبیوتیک از نظر آماری افزایش معنی‌داری دارد ( $P=0/04$ ) که این نشان از قابلیت ممانعت از رشد تومور در گروه پروبیوتیک توسط تجویز لاکتوباسیلوس روتری دارد. هم‌چنین در این مطالعه تغییرات وزن اندازه‌گیری شده و در نمودار ۳ مشخص گردیده است. نتایج نشان می‌دهد که متغیر اندازه افزایش وزن در داخل هر گروه در سنجش‌های مکرر با هم تفاوت معنی‌دار آماری دارد ( $P<0/0001$ ) و تغییرات اندازه افزایش وزن در گروه پروبیوتیک به نسبت گروه کنترل بالا بوده و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ( $P=0/01$ ).



نمودار ۱: روند رشد تومور در دو گروه کنترل و پروبیوتیک

نتایج با  $P=0/03$  گزارش شده و نشان‌دهنده‌ی پایین‌تر بودن سرعت رشد تومور در گروه پروبیوتیک می‌باشد. سایز تومور، دفعات اندازه‌گیری سایز تومور. مقادیر تخمینی حجم تومور بر حسب میلی‌متر می‌باشد.

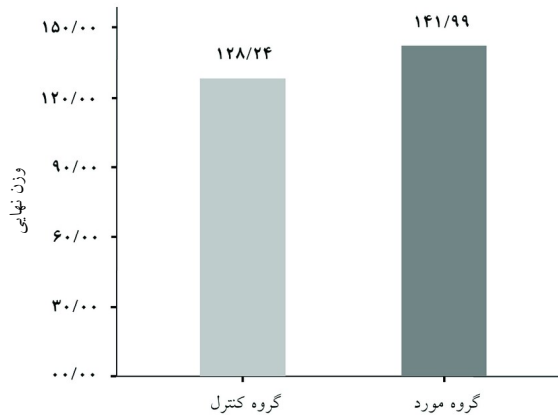


A



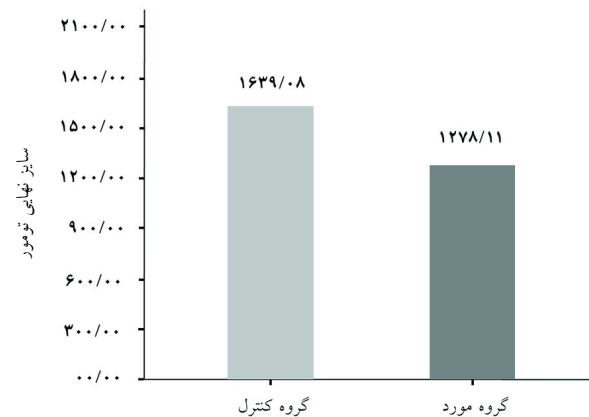
B

شکل ۲: موش‌های BALB/c مبتلا به تومور کارسینوم پستان که در روز ۲۷ از پیوند قرار دارند. (A) موش دریافت‌کننده پروبیوتیک و (B) موش گروه کنترل می‌باشد. تفاوت در سرعت رشد تومور در بین موش‌های دو گروه کنترل و پروبیوتیک کاملاً واضح است.



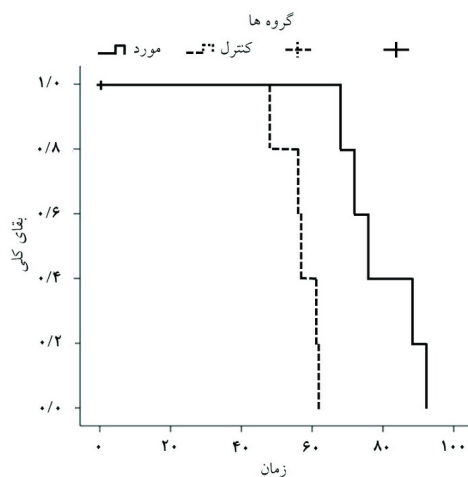
نمودار ۴: نتایج حاصل از وزن نهایی موش‌ها در دو گروه کنترل و پروبیوتیک

با محاسبه‌ی وزن نهایی موش‌ها در دو گروه نتایج نشان می‌داد که گروه دریافت‌کننده‌ی پروبیوتیک کم‌تر درگیر کاهش وزن شدید شده و دارای سلامتی بیش‌تری به نسبت گروه کنترل بودند ( $P=0/01$ ). وزن نهایی موش‌ها و بر حسب گرم گزارش شده است.



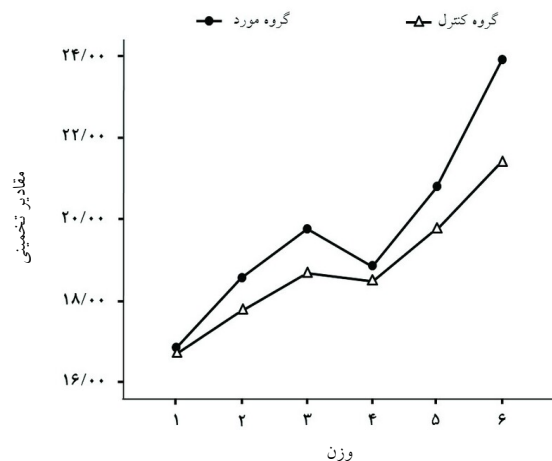
نمودار ۲: حجم نهایی تومور در گروه کنترل و پروبیوتیک

حجم نهایی تومور در گروه پروبیوتیک به نسبت گروه کنترل کاهش معنی‌داری ( $P=0/04$ ) دارد. سایز نهایی تومور در گروه پروبیوتیک و کنترل و بر حسب میلی‌متر گزارش شده است.



نمودار ۵: منحنی بقا دو گروه کنترل و پروبیوتیک

طبق نتایج به‌دست آمده طول عمر در موش‌های گروه پروبیوتیک با معنی‌داری ( $P=0/002$ ) به نسبت گروه پروبیوتیک بیش‌تر بود. طول عمر موش‌ها بر حسب Cum Survival (درصد بقا بر اساس نمودار کاپلان مایر) درصد بقا را در گروه‌ها نشان می‌دهد.



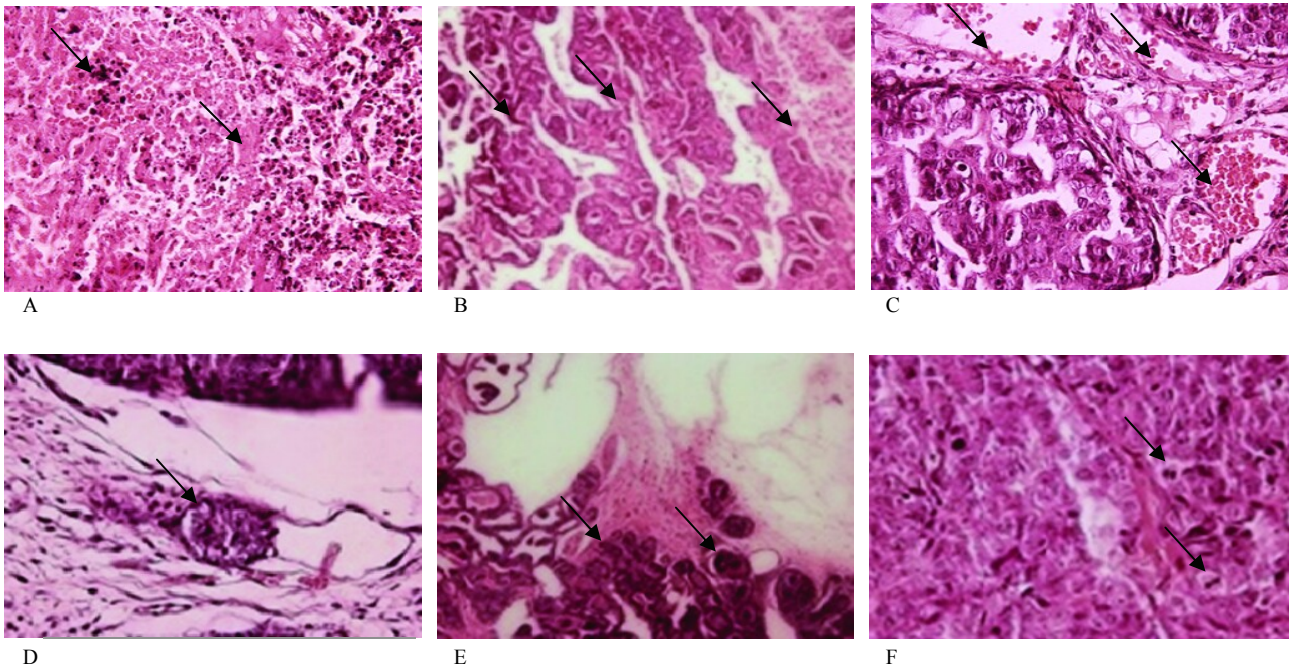
نمودار ۳: نتایج حاصل از روند افزایش وزن در دو گروه کنترل و پروبیوتیک

مقایسه‌ی روند افزایش وزن در دو گروه نشان می‌دهد که با احتساب حجم تومور پایین در گروه پروبیوتیک، وزن موش‌ها در این گروه به نسبت موش‌های کنترل با حجم تومور بالا افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد ( $P=0/01$ ). وزن، دفعات اندازه‌گیری وزن موش‌ها بوده و مقادیر تخمینی اندازه‌ی وزن موش‌ها بر حسب گرم می‌باشد.

## بحث

در سال‌های اخیر دانش بشری در زمینه‌ی عوامل دخیل در بروز سرطان پستان افزایش قابل توجهی داشته است. آنچه در این بین مهم

شد. میزان نکرورز داخل تومور نیز در گروه گیرنده‌ی پروبیوتیک، به‌علت تقویت پاسخ‌های ضد توموری توسط لاکتوباسیلوس روتری در مقایسه با گروه کنترل وسیع‌تر عنوان شد (شکل ۳).



شکل ۳: نتایج مربوط به هیستوپاتولوژی بافت‌های توموری در دو گروه. بافت آلوئول ترشخی پستان درگیر با نکروز در گروه پروبیوتیک (شکل A). بافت توموری گروه پروبیوتیک و نکروز در آن (شکل B). رگ‌زایی در گروه کنترل که نشانی از بدخیمی و پیشرفت تومور دارد (شکل C). مناساز داخل رگ لنفی در گروه کنترل که نشان‌دهنده‌ی پیشرفت غیر قابل درمان تومور می‌باشد (شکل D). تهاجم کپسولی به بافت اطراف در گروه کنترل (شکل E). سلول‌های توموری در حال تقسیم میتوز در گروه کنترل (شکل F). نتایج فوق نشان می‌دهد که عمق صدمات وارده در گروه کنترل به نسبت گروه پروبیوتیک بسیار بالا می‌باشد. (نتایج گزارش شده با فلش بر روی شکل‌ها، مشخص‌تر شده‌اند).

طی مطالعاتی که توسط محققین بر روی گونه‌های مختلفی از باکتری‌های لاکتیک اسید صورت گرفته است، نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که این باکتری‌ها قادر به بهبود عملکرد پاسخ‌های سیستم ایمنی میزبان، افزایش بقا و مقاومت به نئوپلاسم هستند.<sup>۱۶-۱۷</sup> با توجه به مطالعاتی که در گذشته بر روی لاکتوباسیلوس‌های مختلف در ممانعت از رشد سرطان پستان انجام دادیم به این نتیجه دست یافتیم که استعداد لاکتوباسیلوس‌ها در بهبود پاسخ‌های ایمنی، مقاومت به نئوپلاسم و افزایش بقا در حد گونه و زیر گونه متفاوت است<sup>۲۰-۱۷</sup> و این تفاوت ما را بر آن داشت تا این بار بر روی سویه‌ای دیگر از لاکتوباسیلوس‌ها و اثر آن بر روی سرطان پستان بررسی کنیم. در مطالعه‌ی حاضر به بررسی اثر لاکتوباسیلوس روتری بر کاهش حجم تومور، افزایش سطح مقاومت بدن به نئوپلاسم از طریق ممانعت از ابتلا به کاشکسی (لاغری مفرط) و افزایش میزان بقا پرداخته‌ایم. کاهش حجم تومور در اثر تجویز لاکتوباسیلوس روتری و هم‌چنین

می‌نماید به‌کار بردن عواملی است که از بروز این سرطان جلوگیری کنند. در مطالعات اندکی گزارش شده است که برخی از مکمل‌های غذایی غنی شده به‌خصوص در تولیدات لبنی، ممکن است از رشد انواع سرطان‌ها از جمله تومور پستان پیش‌گیری و ممانعت نمایند. امروزه باکتری‌های لاکتیک اسید به‌عنوان پروبیوتیک مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته‌اند، این باکتری‌ها بسیاری از مکانیسم‌های بیولوژیکی در میزبان خود را همراهی می‌کنند. در مقالات متعددی، اثرات درمانی باکتری‌های لاکتیک اسید علیه سرطان و عفونت‌های روده‌ای عنوان شده است. چنین پیش‌بینی می‌شود که مکانیسم عمل پروبیوتیک‌ها بر ضد سرطان‌زایی، به‌میزان اثر آن‌ها بر دیگر باکتری‌های ساکن روده باز می‌گردد. در واقع پروبیوتیک‌ها از رشد باکتری‌هایی که پروکاریسینوزن‌ها را به کارسینوزن تبدیل می‌کنند، جلوگیری می‌نمایند و در نتیجه‌ی این عمل باعث کاهش تعداد کارسینوزن‌ها در روده می‌شوند.<sup>۱۱</sup>

می‌باشد که احتمالاً این پدیده ناشی از اثر تقویت‌کنندگی لاکتوباسیلوس‌ها بر سیستم ایمنی این گروه از موش‌ها در مقابله با تومور است. نتایج هیستولوژی بافت تومور در بررسی اثر لاکتوباسیلوس کازیری و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مطالعه شده نشان می‌داد که افزایش معنی‌داری در میزان نکروز داخل تومور بر اثر تقویت پاسخ‌های ضد توموری در گروه‌های گیرنده پروبیوتیک در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد، همچنین ارتشاح سلول‌های دفاعی و تشکیل سلول‌های غول‌آسا و هیستوسیت‌ها در داخل بافت تومور گروه گیرنده پروبیوتیک بیش‌تر گزارش شده بود.<sup>۱۷-۱۹</sup> نتایج حاصل شده در این بررسی نیز نشان می‌دهد که مصرف روزانه‌ی لاکتوباسیلوس روتری به‌عنوان مکمل غذایی، سبب افزایش میزان سلامتی مصرف‌کننده شده و از احتمال ابتلا به سرطان پستان کاسته و در صورت درگیر شدن بدن با این سرطان، مقاومت به نئوپلاسم را از طریق بهبود عملکرد پاسخ‌های ایمنی میزبان افزایش داده و میزان بقا را بالا می‌برد.

تمام نتایج گزارش شده در بالا نشان می‌دهد که با وجود قابلیت لاکتوباسیلوس‌ها در ممانعت از رشد تومور پستان استعداد آن‌ها در این زمینه متفاوت بوده و هر یک از گونه‌ها به‌تنهایی نیازمند بررسی‌های جداگانه و مقایسه‌ای بیش‌تر است. امید است تا در آینده بتوانیم طیف وسیع‌تری از این باکتری‌های خارق‌العاده را که امروزه به پروبیوتیک‌ها شهرت یافته‌اند، مورد بررسی قرار دهیم.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران تحت عنوان "بررسی اثر تجویز خوراکی لاکتوباسیلوس روتری بر سرطان پستان موش BALB/c"، به‌شماره قرارداد ۱۰۵۴۹ مورخ ۱۳۸۹ می‌باشد که بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه به‌دلیل حمایت‌های مادی و معنوی ایشان تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

کاهش اشکال فعال میتوزی، رگ‌زایی، خون‌ریزی، ادم و پلی‌مورفیسم و افزایش میزان نکروز در مقاطع بافتی تهیه شده از تومور در گروه گیرنده‌ی پروبیوتیک به نسبت گروه کنترل، نشان‌دهنده‌ی تقویت قدرت سیستم ایمنی بدن در مقابله با تومور می‌باشد. همچنین افزایش وزن بدن با احتساب کاهش حجم تومور در گروه مورد درمان با پروبیوتیک حاکی از بهبود حال میزبان است و این در صورتی است که گروه کنترل با احتساب حجم تومور بالا، با نوعی کاشکسی یا کمبود وزن مفرط مواجه شده‌اند که این مورد در گروه پروبیوتیک مشاهده نشده است. در بررسی‌های که بر روی طول عمر در این مطالعه انجام گرفت، نتایج بیان‌کننده‌ی این مطلب بودند که طول عمر گروه دریافت‌کننده‌ی پروبیوتیک افزایش معنی‌داری به نسبت گروه کنترل دارد.

با توجه به مروری بر مطالعات انجام شده در این زمینه، De Moreno De Leblance، مطالعه‌ای بر روی لاکتوباسیلوس هلویتیکوس R389 جداسازی شده از شیرهای تخمیر شده، جهت بررسی خاصیت آن‌ها در توانایی پیش‌گیری از روند افزایش تومور در موش‌های BALB/c مبتلا به سرطان پستان انجام داد که نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده‌ی بهبود وضع سیستم ایمنی و افزایش سلامتی در میزبان و کاهش رشد حجم تومور بود.<sup>۱۲،۱۳</sup>

در مطالعات دیگر ما که برای بررسی تأثیر لاکتوباسیلوس کازیری و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در روند رشد سرطان پستان در مدل حیوانی انجام شده بود نتایج حاصله به‌صورت زیر گزارش گردید: نتایج حجم تومور نشان‌دهنده پایین‌تر بودن حجم نهایی تومور در موش‌های گیرنده پروبیوتیک در مقایسه با گروه کنترل یا گیرنده فسفات بافر نمکی (Phosphate Buffered Saline, PBS) بود. در واقع نتایج در گروه پروبیوتیک نشان داد که سرعت رشد تومور در موش‌های گیرنده این لاکتوباسیلوس‌ها نسبت به گروه کنترل کم‌تر

## References

- Omidvari S, Montazeri A. Cancer in iranian medical books. *Hakim* 2006;9(2):31-8.
- Shariati AA, Salehi M, Ansari M, Latifi SM. Survey the effect of Benson relaxation intervention on quality of life (QOL) in breast cancer patients undergoing chemotherapy. *Sci Med J* 2011;9(6): 625-32.
- Dumitrescu RG, Cotarla I. Understanding breast cancer risk: where do we stand in 2005? *J Cell Mol Med* 2005;9(1):208-21.
- Center of Management of Non-Contiguous Diseases. Iran Ministry of Health and Medical Education. Cancer Registry Report, 2004.
- Marteau P, Seksik P, Jian R. Probiotics and health: new facts and ideas. *Curr Opin Biotechnol* 2002;13(5):486-9.

6. Food and Health Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization (FAO-WHO). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Washington, DC, 2002.
7. Kailasapathy K, Chin J. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunol Cell Biol* 2000;78(1):80-8.
8. Lee YK, Salminen S. The coming of age of probiotics. *Trends Food Sci Tech* 1995;6(7):241-5.
9. de Moreno de LeBlanc A, Matar C, Farnworth E, Perdigon G. Study of cytokines involved in the prevention of a murine experimental breast cancer by kefir. *Cytokine* 2006;34(1-2):1-8
10. de Moreno de LeBlanc A, Perdigon G. The application of probiotic fermented milks in cancer and intestinal inflammation. *Proc Nutr Soc* 2010;69(3):421-8.
11. de Moreno de LeBlanc A, Matar C, Perdigon G. The application of probiotics in cancer. *Br J Nutr* 2007;98 Suppl 1:S105-10.
12. de Moreno de LeBlanc A, Matar C, LeBlanc N, Perdigon G. Effects of milk fermented by *Lactobacillus helveticus* R389 on a murine breast cancer model. *Breast Cancer Res* 2005;7(4):R477-86.
13. de Moreno de LeBlanc A, Matar C, Thériault C, Perdigon G. Effects of milk fermented by *Lactobacillus helveticus* R389 on immune cells associated to mammary glands in normal and a breast cancer model. *Immunobiology* 2005;210(5):349-58.
14. Rachid M, Matar C, Duarte J, Perdigon G. Effect of milk fermented with a *Lactobacillus helveticus* R389(+) proteolytic strain on the immune system and on the growth of 4T1 breast cancer cells in mice. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006;47(2):242-53.
15. 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.
16. 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.
17. Soltan Dallal MM, Yazdi MH, Hassan ZM, Holakuyee M, Abedi Mohtasab TP, Aminharaty F, et al. Effect of oral administration of *Lactobacillus acidophilus* on the immune responses and survival of BALB/c mice bearing human breast cancer. *Tehran Univ Med J (TUMJ)* 2010;67(11):753-8.
18. Soltan Dallal MM, Yazdi MH, Hassan ZM, Holakuyee M, Abedi Mohtasab TP, Aminharaty F, et al. The evaluation of probiotic effect of *L. acidophilus* on the immune responses in BALB/c mice against transplanted tumor derived from breast tissue. *Zanjan Univ Med J* 2010;18(73):37-48.
19. Yazdi MH, Soltan Dallal MM, Hassan ZM, Holakuyee M, Abedi Mohtasab TP, Agha Amiri S, Mahdavi M. The evaluation of probiotic effect of *Lactobacillus casei* on the tumor growth rate in BALB/c mice bearing breast cancer. *J Med Council Islamic Rep Iran* 2009; 27(1):43-51.
20. Yazdi MH, Soltan Dallal MM, Hassan ZM, Holakuyee M, Agha Amiri S, Abolhassani M, et al. Oral administration of *Lactobacillus acidophilus* induces IL-12 production in spleen cell culture of BALB/c mice bearing transplanted breast tumour. *Br J Nutr* 2010; 104(2):227-32.



## Effect of oral administration of *Lactobacillus reuteri* in increased survival and resistance to neoplasm in mice breast cancer

Mohammad Mehdi Soltan Dallal Ph.D.<sup>1,2\*</sup>  
 Leyla Shirazi M.Sc.<sup>2</sup>  
 Mohammad Hossein Yazdi Ph.D. Student<sup>3</sup>  
 Mehdi Mahdavi Ph.D.<sup>4</sup>  
 Soleiman Mokarrari M.Sc.<sup>1</sup>  
 Abbas Rahimi Forushani Ph.D.<sup>5</sup>  
 Babollah Ghasemi M.D.<sup>6</sup>  
 Taraneh Peymaneh Abedi Mohtasab B.Sc.<sup>1</sup>

1- Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Department of Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4- Department of Virology, Pasteur Institute of Tehran, Tehran, Iran.

5- Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

6- Department of Pathology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

\* Corresponding author: Dept. of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.  
 Tel: +98-21-88992971  
 E-mail: soltanirad34@yahoo.com

### Abstract

Received: July 01, 2012 Accepted: October 28, 2012

**Background:** Several reports indicate that the probiotics can increase body resistance against malignant tumors. The aim of this study is to evaluate the effect of *Lactobacillus reuteri* Persian type culture collection (PTCC) 1655 in preventing tumor growth, improving weight and survival rate in mice with breast cancer.

**Methods:** Twenty mice, the BALB/c at six weeks age, weighing approximately 17 gram were divided into two groups. Oral administration of 500 micro liters of *Lactobacillus reuteri* suspension performed for the first group 14 days before tumor transplantation. The second group (control) received the same volume of phosphate buffer saline (PBS). Then the mice had tumor transplantation surgery. *Lactobacillus reuteri* was prescribed in the first group in seven-day period and three-day interruption pattern. At the same time the second group (control) received PBS. This process was continued until 45 day. The tumor growth, histology and body weight were evaluated in both group and the mortality of mice was recorded.

**Results:** In the mice transplanted tumors that had received probiotics, tumor growth decreased in comparison with control group. In this group the body weight increased ( $P>0/05$ ). In addition, the survival of these mice had significantly increased compared to control group ( $P=0.002$ ). The evaluation of tumor tissue also showed increased immune system function in mice receiving the probiotic ( $P>0/05$ ).

**Conclusion:** *Lactobacillus reuteri* can improve immune system function and have an important role to help treatment of cancer.

**Keywords:** breast cancer, *Lactobacillus reuteri*, probiotic, survival rate.