مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دی ۱۳۹۹، دوره ۷۸، شماره ۱۰، صفحه‌های ٦٤٤ تا ٦٥٠ مقاله اصیل

اثرات سایتوتوکسیسیتی و ضدباکتریایی *لاکتوباسیلوس ساکئی* بر رده سلولی آدنوکارسینومای کولورکتال انسان (HT-29) و برخی میکروب‌های بیماری‌زا

محمد صابر ملکی[1]، لیلا روحی[2*]، خلیل خاشعی ورنامخواستی[1و3]

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۲- مرکز تحقیقات سلولی- تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۳- گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران.

[*] نویسنده مسئول: شهرکرد رحمتیه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، مرکز تحقیقات سلولی- تکوینی.
تلفن: ۰۳۸-۳۳۳۶۱۰۰۰
E-mail: lrouhi59@gmail.com

چکیده

دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۲۲ ویرایش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۹ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۲٤ آنلاین: ۱۳۹۹/۱۰/۰۱

زمینه و هدف: حتی پس از انجام جراحی به‌عنوان موثرترین راه درمانی برای سرطان کولورکتال، در حدود ٤۰٪-۳۰ مبتلایان، عود مجدد دیده می‌شود. در مطالعه حاضر اثرات سایتوتوکسیسیتی و ضدباکتریایی *لاکتوباسیلوس ساکئی* بر رده سلولی آدنوکارسینومای کولورکتال انسان (HT-29) و برخی میکروب‌های بیماری‌زا مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در تحقیق حاضر که به‌صورت تجربی از اردیبهشت ۱۳۹۷ تا شهریور ۱۳۹۷ در مراکز تحقیقات سلولی- تکوینی و باکتری‌شناسی مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شد، اثر ضدباکتریایی مایع رویی کشت باکتری‌های *لاکتوباسیلوس ساکئی* علیه عوامل بیماری‌زای باکتریایی به‌کمک روش چاهک بررسی گردید. با کشت رده سلولی (HT-29) در محیط کشت DMEM محتوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی و تیمار سلول‌ها در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ mg/ml از متابولیت‌های ساکئی و انکوبه شدن در زمان ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت، میزان رشد سلولی با روش رنگ‌سنجی MTS طبق دستورالعمل کیت در هر سه زمان انکوباسیون مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور کاهش خطا، آزمون‌ها با سه بار تکرار انجام گرفت.

یافته‌ها: ساکئی قادر به تولید متابولیت‌های مقابله کننده با عوامل بیماری‌زای باکتریایی می‌باشد. به‌علاوه تیمار رده سلولی HT-29 با متابولیت‌های تولید شده توسط ساکئی نشان داد که با افزایش غلظت متابولیت‌ها، به‌صورت وابسته به دوز و زمان، توان زیستی در این رده سلولی (HT-29) کاهش می‌یابد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد زمینه‌ی تحقیقاتی مناسبی برای بهره‌برداری از ترکیبات فعال زیستی تولید شده توسط *لاکتوباسیلوس ساکئی* در کنترل و مقابله با عوامل بیماری‌زای باکتریایی و درمان آدنوکارسینومای کولورکتال (HT-29) وجود داشته باشد.

کلمات کلیدی: آدنوکارسینوما، سایتوتوکسیسیتی، *لاکتوباسیلوس ساکئی*، میکروب‌های بیماری‌زا.

مقدمه

زمانی تصور بر آن بود که دستگاه گوارش انسان تنها مکانی برای هضم و جذب مواد غذایی است ولی طی سالیان اخیر مشخص شده است که دستگاه گوارش، میزبان بیش از ۵۰۰ گونه‌ی شناخته شده از میکروب‌ها می‌باشد که این میکروفلور روده از لحاظ متابولیک فعال بوده و برای میزبان اثرات مفید زیادی دارد.[1و2] فلور متعادل روده از طریق رقابت، باکتری‌های بیماری‌زا را از روده خارج و سیستم ایمنی را تحریک کرده و مواد مغذی و حیاتی مانند اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه‌ی مختلف را تولید می‌کند. این درحالی‌است که عدم تعادل فلورمیکروبی روده عامل ایجاد بیماری‌های میکروبی و سرطانی مختلف می‌باشد. افزایش بیماری‌های

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-24]

عفونی و سرطان‌های دستگاه گوارش، امروزه محققین را بر آن داشته تا با روش‌های جدید و به‌کارگیری میکروارگانیسم‌های مفید، درمان و کنترل بیماری‌ها را میسر سازند. شواهد فراوانی حاکی از آن است که مصرف میکروارگانیسم‌های زنده (پروبیوتیک‌ها) سبب تقویت میکروفلور روده می‌شود.[٥-٣] پروبیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی میکروبی زنده‌ای هستند که از طریق بهبود توازن فلورمیکروبی، اثرات مفیدی بر روی سلامت مصرف کننده دارند. این گروه از باکتری‌ها نقش مهمی را در بازدارندگی عفونت در قسمت‌های مختلف بدن به‌ویژه دستگاه گوارش ایفا می‌کنند.[٦و٧] پروبیوتیک‌ها به‌طور عمده از جنس لاکتوباسیلوس و بیفیدیوباکتریوم می‌باشند. این باکتری‌ها گرم مثبت، کاتالاز منفی و فاقد اسپور بوده و دارای خصوصیاتی چون تحمل اسیدهای صفراوی، تولید اسیدهای ارگانیک، ترکیبات ضدمیکروبی و تجمع‌پذیری سلول با باکتری‌های بیماری‌زا و ممانعت از اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به سطوح دستگاه گوارش می‌باشند. در نتیجه استفاده از مکمل‌های پروبیوتیک کلنی‌های مفیدی ایجاد خواهد شد که می‌توانند مانند فلورمیکروبی طبیعی روده مانع از رسیدن و اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به سلول هدف شوند و آنها را با تولید ترکیبات ضدمیکروبی از بین برند و از شروع روند بیماری جلوگیری کنند و در عین حال شرایطی را فراهم آورند که فلورمیکروبی طبیعی روده خود را ترمیم و بازسازی کند، سپس کلنی‌ها توسط محیط باکتریایی طبیعی روده که خود را بازسازی کرده است، جایگزین خواهند شد. از این‌رو پروبیوتیک‌ها را ترمیم‌کننده‌های زیستی (Bioremediators) می‌نامند.[١٠-٨] مصرف خوراکی پروبیوتیک‌ها نیز می‌تواند اثر ضدسرطانی داشته باشد و از بروز حداقل یک دوم کل سرطان‌های گوارشی که به‌دلیل ترکیبات موجود در رژیم غذایی ایجاد می‌شوند جلوگیری به‌عمل آورد. مطالعات جدید نشان می‌دهد که ترکیبات متابولیتی سویه‌های لاکتوباسیلوس قادر هستند از طریق جلوگیری از تبدیل پروکارسینوژن به کارسینوژن، اتصال و غیرفعال کردن ترکیبات میتوژنی، کاهش رشد باکتری‌های پروکارسینوژنز، کاهش جذب میتوژن‌ها، افزایش عملکرد سیستم ایمنی و القاء آنزیم محافظت‌کننده گلوتاتیون ترانسفراز II، (Glutathione transferase protection enzyme II) موجب کاهش بار عوامل ژنوتوکسیک در روده شده و همچنین باعث افزایش تولید عواملی گردند که ترکیبات سمی را غیرفعال می‌سازند.[١١و١٢] یکی از مهمترین مشکلات مبتلایان به سرطان، تکثیر بی‌رویه سلول‌ها است، بنابراین هر عاملی که قادر به مهار تکثیر سلولی باشد، می‌تواند برای پیشگیری و جلوگیری از پیشرفت آن‌ها مفید واقع شود. بهترین حالت مهار یا سرکوب تکثیر سلولی، القاء مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌باشد، چرا که باعث ایجاد التهاب در سلول‌های مجاور نخواهد شد و عامل ایمنی برای سرکوب تومور خواهد بود. بررسی‌ها نشان می‌دهد باکتری‌های پروبیوتیک نظیر سویه‌های لاکتوباسیلوس باعث القاء مسیر میتوکندریایی آپوپتوز در سلول‌های سرطانی روده می‌شوند. از این‌رو به‌عنوان همیار با شیمی‌درمانی به‌کار گرفته شوند.[١٣و١٤] با وجود پیشرفت در زمینه‌های درمانی سرطان کولورکتال، باز هم رایجترین درمان برای آن برداشتن تومور به روش عمل جراحی می‌باشد که متاسفانه این روش درمانی در بسیاری از موارد عود را نشان می‌دهد و درمان قطعی به‌حساب نمی‌آید. از این رو لزوم دستیابی به راهکارهای درمانی موثرتر برای سرطان کولورکتال احساس می‌شود. در سال‌های اخیر پروبیوتیک‌ها به‌علت اعمال اثرات ضدسرطانی، تعدیل فرآیند تمایز در سلول‌های توموری، تغییر در بیان ژن تومور و عدم بروز پاسخ‌های ایمونولوژیکی به‌عنوان یک راهکار درمانی جدید و موثر برای درمان آدنوکارسینومای کولورکتال توجه زیادی را به سمت خود جلب کرده‌اند.[١٥]

روش بررسی

این مطالعه پژوهشی به صورت تجربی از اردیبهشت ١٣٩٧ تا شهریور ١٣٩٧ در مرکز تحقیقات سلولی-تکوینی و مرکز تحقیقات باکتری‌شناسی مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و آزمایشگاه مرکزی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. باکتری مورد نظر تحقیق یعنی *لاکتوباسیلوس ساکئی* از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران خریداری گردید. به منظور جداسازی متابولیت ضدمیکروبی تولیدی از کشت ٢٤ ساعته باکتری در محیط TSB استفاده و کشت‌ها در دور ١٢٠٠٠ g به‌مدت ١٠ دقیقه سانتریفیوژ شدند، سپس سلول‌ها از سوپرناتانت (Supernatant) جداسازی شد و از سوپرناتانت سلول‌ها جهت بررسی فعالیت ضدمیکروبی و ضدسرطانی استفاده گردید. با استفاده از پیپت پاستور استریل، چاهک‌هایی (چاهک‌هایی به قطر ٥ mm) بر روی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-24]

محیط کشت مولر هینتون آگار (Mueller-Hinton agar culture medium) ایجاد شد. به‌دنبال آن هر کدام از باکتری‌های شامل *استافیلوکوکوس اورئوس (Staphylococcus aureus)* (PTCC 1431)، *باسیلوس سرئوس (Bacillus cereus)* (PTCC 1247)، *سودوموناس آئروجینوزا (Pseudomonas aeruginosa)* (PTCC 27853)، *کلبسیلا پنومونیه* (Klebsiella pneumonia) (PTCC 1053)، *سالمونلا تیفی‌موریوم* (Salmonella typhimurium) (PTCC 1639)، *شیگلا دیسانتری* (Shigella dysentery) (PTCC 1188) و *اشرشیای کولای (Escherichia coli)* (PTCC 1399)، به ml ۳ محیط کشت NB Broth اضافه شدند تا کدورتی معادل کدورت (MCFARLAND #0.5 tubes, Key Scientific Products, Texas, USA) به‌دست آید، سپس بر روی محیط کشت جامد مولر هینتون آگار به‌وسیله‌ی سوآپ استریل و به‌صورت سفره‌ای کشت داده شدند. در ادامه به میزان ml ۰/۱ از سوپرناتانت باکتری *لاکتوباسیلوس ساکئی* به چاهک‌ها اضافه و در نهایت پلیت‌ها به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ °C انکوبه شدند. پس از گذشت ٢٤ ساعت، قطر هاله‌ی عدم رشد علیه باکتری‌ها و بود یا نبود فعالیت ضدمیکروبی با استفاده از خط‌کش میلیمتری اندازه‌گیری شد. نمونه‌هایی که دارای هاله عدم رشد بودند را درون لوله فالکون (Falcon tube) ml ۱۵ ریخته، درون سانتریفیوژ با دور rpm ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد تا سوپرناتانت باکتری *لاکتوباسیلوس ساکئی* از خود باکتری جدا شود. سپس مقدار ml ۲ از سوپرناتانت را درون ویال‌های لیوفیلیزه (Lyophilized vials) ریخته و درون فریزر ۲۰- قرار داده و پس از مدت ٢٤ ساعت ویال‌ها درون دستگاه فریز درایر، قرار داده شد و سوپرناتانت ابتدا فریز و سپس خشک گردید و در نهایت نمونه‌ها تا زمان استفاده در دمای ۲۰- °C نگهداری شدند. رده‌ی سلولی HT-29 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران خریداری شد. در محیط کشت Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM, Gibco, USA) حاوی ۱۰٪ Foetal Bovine Serum (FBS, Gibco, USA) و یک درصد Penstrep- (Penicillin-Streptomycin (Penstrep, Gibco, USA) در انکوباتور (Memmert lab incubator, Germany) با فشار ۵٪ گاز CO_2، رطوبت ۹۰٪ و دمای ۳۷ °C، در فلاسک ۷۵ کشت داده شد.

محیط کشت هفته‌ای سه بار تعویض و برای برداشت کردن سلول‌ها از محلول تریپسین/EDTA استفاده شد. توان زیستی سلول‌های رده‌ی HT-29 تیمار شده با غلظت‌های مختلف متابولیت‌های باکتری *لاکتوباسیلوس ساکئی* توسط تست MTS، با استفاده از کیت (CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay (MTS), Promega corporation, USA) با شماره محصول G5421 مورد ارزیابی قرار گرفت. به این ترتیب که تعداد ۵×۱۰۳ سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ چاهکی کشت داه شد و سپس با غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ mg/ml متابولیت ساکئی برای مدت زمان ٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت تیمار و انکوبه گردید.[14] پس از اتمام زمان انکوباسیون، محیط رویی تیمار گردآوری شد و مقدار µl ۲۰ محلول MTS به هر چاهک اضافه گردید و انکوباسیون چهار ساعته صورت گرفت. در نهایت جذب نمونه‌ها توسط دستگاه (ELISA-reader, Awareness Technology, USA) با طول موج nm ٤٩٠ خوانش گردید.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA)، SPSS software, version 14 (IBM SPSS, Armonk, NY, ANOVA, USA) استفاده گردید. در تمام بررسی‌ها P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

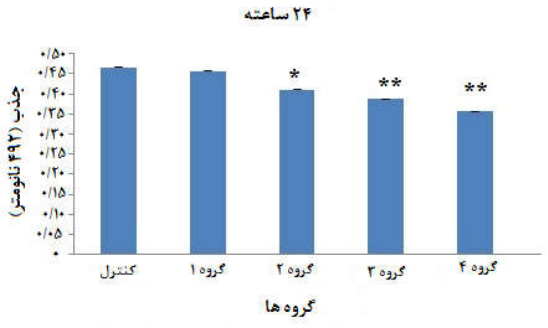
نتایج به‌دست آمده در این مرحله براساس روش Well diffusion assay، نشان دهنده‌ی اثر مهاری مناسب متابولیت‌های *لاکتوباسیلوس ساکئی* بر باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشد (جدول ۱). طی این روش بیشترین اثر مهاری با مهار mm ١٤ برعلیه *باسیلوس سرئوس* و کمترین میزان مهارکنندگی با مهار mm ۱۰/٦٦ برعلیه شیگلا دیسانتری صورت گرفت. اثر مهاری برای سایر عوامل بیماری‌زای باکتریایی با میانگین mm ۱۲-۱۱ گزارش شد.

توان زیستی سلول‌های رده‌ی HT-29 تیمار شده با غلظت‌های متابولیت‌های *لاکتوباسیلوس ساکئی* (۵، ۱۰، ۱۵ و mg/ml ۲۰)، پس از گذشت زمان‌های سه گانه انکوباسیون (٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت) با استفاده از تست MTS مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل شده از این تست حاکی از آن می‌باشد که متابولیت‌های ساکئی قادر است رشد سلول‌های آدنوکارسینومای کولورکتال را به‌صورت وابسته به دوز و زمان کاهش دهد. به‌طوری که با افزایش دوز تیمار و افزایش

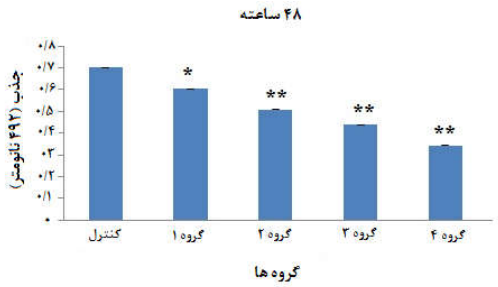
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-24]

جدول ۱: میزان مهارکنندگی متابولیت‌های تولید شده توسط *لاکتوباسیلوس ساکئی* در مهار باکتری‌های بیماری‌زا بر حسب mm (Well method)

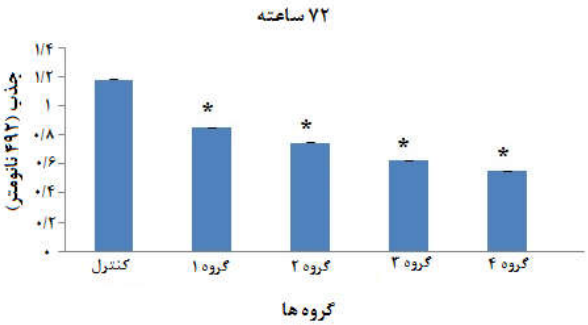
سویه‌های میکروبی	قطر هاله ممانعت‌کننده‌ی رشد متابولیت‌های تولیدی (بر حسب mm)
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۳/٦٦
باسیلوس سرئوس	۱٤
اشرشیا کلی	۱۲/۳۳
سودوموناس آئروجینوزا	۱۲
کلبسیلا پنومونیه	۱۱/۳۳
سالمونلا تیفی موریوم	۱۲/٦٦
شیگلا دیسانتری	۱۰/٦٦



نمودار ۱: تاثیر غلظت‌های مختلف متابولیت‌های *لاکتوباسیلوس ساکئی* بر توان زیستی رده سلول‌های HT-29 در مدت زمان انکوباسیون ۲٤ ساعته، (* P≤۰/۰۵، ** P≤۰/۰۰۱، اختلاف معنادار با گروه کنترل)



نمودار ۲: تاثیر غلظت‌های مختلف متابولیت‌های *لاکتوباسیلوس ساکئی* بر توان زیستی رده سلول‌های HT-29 در مدت زمان انکوباسیون ٤۸ ساعته، (* P≤۰/۰۵، ** P≤۰/۰۰۱، اختلاف معنادار با گروه کنترل)



نمودار ۳: تاثیر غلظت‌های مختلف متابولیت‌های *لاکتوباسیلوس ساکئی* بر توان زیستی رده سلول‌های HT-29 در مدت زمان انکوباسیون ۷۲ ساعته، (* P≤۰/۰۵، ** P≤۰/۰۰۱، اختلاف معنادار با گروه کنترل)

زمان تیمار از درصد سلول‌های زنده در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل کاسته می‌شود (تمودار ۱ و ۲ و ۳).

بحث

تحقیقات گذشته و در حال انجام در زمان کنونی بر روی متابولیت‌های تولید شده توسط باکتری‌های پروبیوتیکی حکایت از توانایی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در درمان و کنترل بیماری‌های میکروبی دارد به‌عنوان مثال گزارش‌های صورت گرفته در سال‌های ۱۹۸۸، ۲۰۰٤ و ۲۰۰۷ بیان داشته‌اند که باکتری‌های پروبیوتیک افزون‌بر تولید عوامل ممانعت کننده از رشد باکتری‌های بیماری‌زا نظیر اسید آلی و پراکسید هیدروژن با استفاده از مکانیسم تجمع سلولی با باکتری‌های بیماری‌زا، مکانیسم دفاعی قابل اهمیتی را برای میزبان بر علیه اتصال و استقرار عوامل باکتریایی بیماری‌زا ایجاد می‌کنند.[۱٦و۱۸] در سال ۲۰۰۵ اثر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (*Lactobacillus plantarum*) بر روی *سودوموناس آئروژینوزا* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی اثر مهاری رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی سودوموناس آئروژینوزا را نشان داد.[۱۹] بررسی خواص ضدمیکروبی باکتری‌های پروبیوتیک بر روی برخی از باکتری‌های بیماری‌زا در سال‌های ۲۰۰۱ و ۲۰۱۰ نیز نشان داد که باکتری‌های

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-24]

پروبیوتیک قادرند از طریق اعمال مکانیسم ضداتصالی و تجمع‌پذیری از عفونت‌های ناشی از سویه‌ی *سودموناس آئروژینوزا* جلوگیری به‌عمل آورند.[٢٠و٢١] در سال ٢٠١٤ کشت کامل *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، اثرات ضدمیکروبی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیاکلی* و *باسیلوس سوبتلیس (Bacillus subtili)s* را نشان داد و همچنین مشخص کرد که *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشترین اثر ضدمیکروبی را دارد.[٢٢] بررسی اثر پروبیوتیکی بیفیدوباکتریوم (Bifidobacterium) بر روی سلول‌های سرطانی cacoII (رده سلولی سرطان روده بزرگ) در سال ٢٠١٤ نشان داد که مایع رویی کشت بیفیدوباکتریوم روی این سلول‌های سرطانی اثر مهاری دارد.[٢٣] Siao و همکاران در نتیجه بررسی دو سویه لاکتوباسیلوس بومی و ١٠ باکتری لاکتیک اسید، فعالیت ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی قوی سویه‌های بومی را نشان دادند.[٢٤]

در تحقیق حاضر توانایی متابولیت‌های *لاکتوباسیلوس ساکئی* در مهار باکتری‌های بیماری‌زا و خاصیت ضدتکثیری آن بر روی سلول‌های سرطانی، در سلول‌های رده‌ی آدنوکارسینومای کولورکتال انسان (HT-29)، مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش خاصیت ضدمیکروبی متابولیت‌های تولیدی *لاکتوباسیلوس ساکئی* بر اساس روش چاهک نشان داد که این ترکیبات فعال زیستی اثر مهاری مناسبی بر رشد سایر عوامل بیماری‌زای باکتریایی مورد نظر تحقیق دارد.

توان زیستی سلول‌های تحت تیمار با متابولیت‌های *لاکتوباسیلوس ساکئی* از طریق کیت MTS مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین صورت که سلول‌ها برای مدت زمان ٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت تحت تاثیر غلظت‌های مختلف متابولیت‌های *لاکتوباسیلوس ساکئی* انکوبه شدند. نتایج حاصل شده از این تست حاکی از آن می‌باشد که متابولیت‌های *لاکتوباسیلوس ساکئی* قادرند رشد سلول‌های آدنوکارسینومای کولورکتال را به‌صورت وابسته به دوز و زمان کاهش دهند. به‌طوری که با افزایش دوز تیمار و افزایش زمان تیمار از درصد سلول‌های زنده در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل کاسته می‌شود. به‌طورکلی با توجه به اختلالات به‌وجود آمده در سلول‌های سرطانی و نیز وجود مقاومت دارویی در این سلول‌ها، شناسایی ترکیبات جدید مهارکننده رشد سلولی همانند متابولیت‌های میکروبی جهت کمک به پیشبرد اهداف درمانی سرطان پیشنهاد می‌گردد.

نتایج حاصل از تست چاهک و MTS صورت گرفته در تحقیق حاضر، بیانگر این مسئله می‌باشد که متابولیت‌های تولید شده توسط *لاکتوباسیلوس ساکئی* قادرند از طریق اعمال مکانیسم ضداتصالی و تجمع پذیری از عفونت‌های باکتری‌های بیماری‌زا جلوگیری به‌عمل آورند و با تاثیرگذاری بر مسیرهای پیام رسان سلولی، توان زیستی سلول‌های آدنوکارسینومای کولورکتال انسان را کاهش دهند و از این طریق در درمان سرطان کولورکتال مؤثر واقع گردند.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل پایان‌نامه تحت عنوان "تعیین اثرات سایتوتوکسیسیتی و ضدباکتریایی لاکتوباسیلوس ساکئی بر رده سلولی آدنوکارسینومای کولورکتال انسان (HT-29) و برخی میکروب‌های بیماری‌زا" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ١٣٩٧ و کد IR.IAU.SHK.REC.1397.028 دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد می‌باشد که با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شده است.

References

1. Harish K, Varghese T. Probiotics in humans–evidence based review. *Calicut Med J* 2006;4(4):e3.
2. Homayouni Rad A. Therapeutical effects of functional probiotic, prebiotic and synbiotic foods. *Tabriz: Tabriz Univ Med Sci* 2008:17-22.
3. Górska A, Przystupski D, Niemczura MJ, Kulbacka J. Probiotic bacteria: a promising tool in cancer prevention and therapy. *Curr Microbiol* 2019:1-11.
4. Sanders ME. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J Nutr* 2000;130(2):384S-90S.
5. Reid G, Burton J. Use of Lactobacillus to prevent infection by pathogenic bacteria. *Microbes infect* 2002;4(3):319-24.
6. Tannock G, Munro K, Harmsen H, Welling G, Smart J, Gopal P. Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a probiotic product containing Lactobacillus rhamnosusDR20. *Appl Environ Microbiol* 2000;66(6):2578-88.
7. Picard C, Fioramonti J, Francois A, Robinson T, Neant F, Matuchansky C. bifidobacteria as probiotic agents–physiological effects and clinical benefits. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22(6):495-512.
8. Collado MC, Surono I, Meriluoto J, Salminen S. Indigenous dadih lactic acid bacteria: cell-surface properties and interactions with pathogens. *J Food Sci* 2007;72(3):M89-M93.
9. Servin AL. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiol Rev* 2004;28(4):405-40.
10. And HC, Hoover D. Bacteriocins and their food applications. *Compr Rev Food Sci Food saf* 2003;2(3):82-100.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-24]

11. Doron S, Gorbach SL. Probiotics: their role in the treatment and prevention of disease. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2006;4(2):261-75.
12. Abrahamse S, Pool-Zobel B, Rechkemmer G. Potential of short chain fatty acids to modulate the induction of DNA damage and changes in the intracellular calcium concentration by oxidative stress in isolated rat distal colon cells. *Carcinogenesis* 1999;20(4):629-34.
13. Altonsy MO, Andrews SC, Tuohy KM. Differential induction of apoptosis in human colonic carcinoma cells (Caco-2) by Atopobium, and commensal, probiotic and enteropathogenic bacteria: mediation by the mitochondrial pathway. *Int J food microbiol* 2010;137(2-3):190-203.
14. Baldwin C, Millette M, Oth D, Ruiz MT, Luquet F-M, Lacroix M. Probiotic Lactobacillus acidophilus and L. casei mix sensitize colorectal tumoral cells to 5-fluorouracil-induced apoptosis. *Nut Cancer* 2010;62(3):371-8.
15. Saebnia N, Sadeghizadeh M. The main factors involved in the recurrence of colorectal cancer and therapeutic methods against them. *J Police Med* 2016;5(2):87-95.
16. Reid G, Burton J. Use of Lactobacillus to prevent infection by pathogenic bacteria. *Microbes Infect* 2002;4(3):319-24.
17. Forestier C, De Champs C, Vatoux C, Joly B. Probiotic activities of Lactobacillus casei rhamnosus: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. *Res Microbiol* 2001;152(2):167-73.
18. Schachtsiek M, Hammes WP, Hertel C. Characterization of Lactobacillus coryniformis DSM 20001T surface protein Cpf mediating coaggregation with and aggregation among pathogens. *Appl Environ Microbiol* 2004;70(12):7078-85.
19. Jankovic I, Ventura M, Meylan V, Rouvet M, Elli M, Zink R. Contribution of aggregation-promoting factor to maintenance of cell shape in Lactobacillus gasseri 4B2. *J bacteriol* 2003;185(11):3288-96.
20. Soleimani NA, Kermanshahi RK, Yakhchali B, Sattari TN. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli against Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis. *Afr J Microbiol Res* 2010;4(20):2169-73.
21. Maia O, Duarte R, Silva A, Cara D, Nicoli J. Evaluation of the components of a commercial probiotic in gnotobiotic mice experimentally challenged with Salmonella enterica subsp. enterica ser. Typhimurium. *Vet Microbiol* 2001;79(2):183-9.
22. Anas M, Eddine HJ, Mebrouk K. Antimicrobial activity of Lactobacillus species isolated from Algerian raw goat's milk against Staphylococcus aureus. *World J Dairy Food Sci* 2008;3(2):39-49.
23. Rolfe RD. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J Nutr* 2000;130(2):396S-402S.
24. Siao A-C, Hou C-W, Kao Y-H, Jeng K-C. Effect of sesamin on apoptosis and cell cycle arrest in human breast cancer mcf-7 cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;16(9):3779-83.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-24]

TUMJ Tehran University Medical Journal, January 2021; Vol. 78, No. 10: 644-650 Original Article

Cytotoxic and antimicrobial effects of *lactobacillus sakei* on human colorectal adenocarcinoma cell line (HT29) and some pathogenic microorganisms

Mohammad Saber Malaki M.Sc.[1]
Leila Rouhi Ph.D.[2*]
Khalil Khashei Varnamkhasti Ph.D.[1,3]

1- Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
2- Cellular- Developmental Research Center, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
3- Department of Genetics, School of Medicine, University of Islamic Azad, Kazerun Branch, Kazerun, Iran.

[*]Corresponding author: Cellular and Developmental Research Center, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Rahmatieh, Shahrekord, Iran.
Tel: +98-38-33361000
E-mail: lrouhi59@gmail.com

Abstract

Received: 11 Jun. 2020 Revised: 18 Jun. 2020 Accepted: 14 Dec. 2020 Available online: 21 Dec. 2020

Background: Even after surgery, as the most effective treatment for colorectal cancer, about 30-40% of cases are recurring. Since growth inhibition is an important strategy in cancer treatment, many attempts are in the program to find new agents, so in this study, the cytotoxic and antimicrobial effects of Lactobacillus sakei on colon cancer cell line (HT-29) and some pathogenic microorganisms have been evaluated. Lactobacillus sakei is a probiotic that, when consumed affects the intestinal flora, causes beneficial effects on host health. Probiotics due to their anti-cancer effects, modulation of the differentiation process in tumor cells, changes in tumor gene expression and lack of immunological responses have attracted a lot of attention as a new and effective treatment for colorectal adenocarcinoma.

Methods: In the present study, which was conducted experimentally from May to September 2018 in bacteriology and Cellular and Developmental Research Centers of Islamic Azad University, Shahrekord branch, the antimicrobial activity of supernatant of Lactobacillus sakei was assessed by Well Diffusion Agar (WDA) method against some pathogenic bacteria. HT-29 Colorectal adenocarcinoma cancer cells were cultured in DMEM medium with 10% bovine serum. The cells were treated in 5, 15, 10 and 20 mg/ml concentrations of sakei metabolites and incubated at 24, 48 and 72 hours. Cell growth was analyzed by celltiter 96® aqueous one solution cell proliferation assay kit to the manufacturer's protocol in all three incubation times.

Results: The results of this study indicate that sakei was able to produce antimicrobial metabolites against pathogenic bacteria. Besides, the results of the celltiter 96® aqueous one solution cell proliferation assay showed that the bioavailability of HT-29 cell lines decreased at all concentrations of sakei metabolites in a dose and time-dependent manner.

Conclusion: Since lactic acid probiotic bacteria can alter the metabolic activities of the intestinal microflora, attach to carcinogens and destroy them, prevent carcinogenesis such as ammonia and secondary bile acids, producing anti-cancer substances and creating an acidic state to inhibit the growth and proliferation of carcinogenic bacteria, It seems that there is a good research field for the use of bioactive compounds produced by Lactobacillus sakei in the control of bacterial pathogens and treatment of human colorectal adenocarcinoma (HT-29).

Keywords: adenocarcinoma, cytotoxicity, *Lactobacillus sakei*, pathogenic microorganisms.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-05-24]