

# ارزیابی اثرات پروبیوتیک های *Bacillus* و *Lactobacillus Casei* Coagulans بر رده سلول های سرطانی AGS و DU145

سمانه انصاری نیا<sup>۱</sup>، علی شریف زاده<sup>۲\*</sup>

## چکیده

پروبیوتیکها مکمل خوراکی میکروبی زنده هستند و طیفی از اثرات مفید مختلف به پروبیوتیکها نسبت داده می شود. امروزه پروبیوتیک ها بعنوان عاملی برای پیشگیری از ابتلا به بسیاری از بیماری های عفونی و سرطان شناخته شده اند. در این تحقیق اثر پروبیوتیکهای *Lactobacillus casei* و *Bacillus coagulans* کوآگولانسروی سلولهای سرطانی (AGS, DU145) رده سلول سرطانی معده و پروستات) بررسی شد. برای این کار، این دو باکتری در محیط کشت Broth MRS کشت داده شده و از کشتهای ۴۸،۲۴ و ۷۲ ساعته، رسوب و سوپرناتانت تهیه گردید. سوپرناتانت ها در دو قالب اسیدی و خنثی شده با NaOH 1N آماده سازی گردید. غلظتهای ۱۰۰،۱۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم/میلی لیتر از عصاره ها نیز تهیه و بشكل مجزا روی سلولهای سرطانی AGS و DU145 کشت شده در میکروپلیت ۹۶ خانه ای اثر داده شد. نتایج به دست آمده نشان داد که غلظت های ۱۰۰۰ میکروگرم / میلی لیتر عصاره و ۳۰۰ میکروگرم/میلی لیتر سوپرناتانت در ۷۲ ساعت دارای غلظت مهاری بیش از ۵۰٪ بوده اند. اثر مهاری سوپرناتانت ها رابطه مستقیم با زمان و غلظت داشت.

واژگان کلیدی: پروبیوتیک، سرطان معده، سرطان پروستات

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۴/۳۱

## مقدمه

سرطان معده در کشور، شایع ترین سرطان دستگاه گوارش و پس از سرطان پوست شایع ترین سرطان می باشد (۱). سرطان پروستات نیز در ۷۰ درصد مردان دیده می شود و دومین علت مرگ و میر مردان است (۲). اهمیت درمان سرطان و اثرات جانبی مضر ناشی از مصرف برخی از داروهای شیمیایی سبب شده است که ادعای

و پاد سرطانزا بودن پروبیوتیکها به شدت مورد توجه قرار گیرد. هرچند پروبیوتیک ها از لحاظ لغوی به معنای "برای زندگی" بوده ولی در اصطلاح، به ارگانسیمهای زنده ای اطلاق میشود که در صورت مصرف به میزان لازم، دارای اثرات سلامت بخشی بر روی بدن میزبان می باشند. از جمله این اثرات سلامت بخشی، می توان به خواص پادجوش زاء، پادسرطان زا و تحریک، تقویت و تنظیم سیستم ایمنی اشاره نمود (۳-۵).

پروبیوتیک ها که نقش مهمی در تعدیل سیستم گوارشی و سیستم ایمنی دارند، از لحاظ عملکردی به دو دسته پروبیوتیک های عمومی و شرایطی تقسیم می گردند. دسته اول نظیر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم در تمامی شرایط زیستی، پروبیوتیک محسوب می گردند در حالی که دسته دوم نظیر برخی گونه های باسیلوس، آنتروکوکوس فیسیوم و اشیریشیا فقط در شرایط ویژه، مثلا در حضور باکتریهای مضر خاص و یا گونه های خاص، از خاصیت پروبیوتیکی برخوردار هستند. تنوع پروبیوتیک ها همواره در حال افزایش بوده و تحقیقات جدید منجر به شناخت جنس های جدیدی اعم از باکتری ها، مخمرها و... که دارای خواص پروبیوتیکی می باشند گردیده است (۶، ۷). پروبیوتیک ها با تأثیر بر برخی آنزیم های گوارشی، مهار عوامل سرطان زا، اتصال، غیر فعال کردن و کاهش جذب ترکیبات میتوزنی و افزایش عملکرد سیستم ایمنی، نقش مؤثری در جهت مقابله با سرطان ایفا می کنند. آنزیمهای مدفوعی،

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲. گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران  
Sharifzadeh@iaushk.ac.ir

و آزادسازی سایتوکاین‌های ضدالتهابی همراه است (۱۴). گزارش شده است که خواص پادسرطانی ب. اینفتیس، ب. بیفیدوم، ب. انیمالیس، ل. اسیدوفیلوس و ل. پاراکازئی در ارتباط با جلوگیری از تکثیر سلولهای سرطانی پستان ارتباطی به حضور خود این باکتریها ندارد و به متابولیت‌های تولید شده توسط آنها مربوط است (۱۵). متابولیت‌های ترشح شده پروبیوتیکها ممکن است با اثر بر سلولهای اپیتلیال روده، تکثیر سلولهای سرطانی را کاهش دهند (۱۶). ویتامین محلول در آب فولات از جمله متابولیت‌های مفید پروبیوتیکها محسوب می‌گردد (۱۷). در بسیاری از سرطانها، کاهش توانایی در پیش بردن آپوپتوز، باعث تغییر در فرآیند تکثیر سلولی می‌گردد (۱۴). تنظیم در زنده ماندن و مرگ‌ها سلول به وسیله مولکول‌های عمل‌کننده در فرایند آپوپتوز می‌تواند نقش مهمی در پیشگیری و درمان سرطان‌ها داشته باشد. شواهد بسیاری وجود دارند که پروبیوتیک‌ها می‌توانند در تنظیم تکثیر سلولی و آپوپتوز نقش داشته باشند (۱۸). بیشترین پژوهش‌های پادسرطانی پروبیوتیکها به ترتیب بر سرطان رحم، پستان و مثانه صورت گرفته است (۱۹). هدف از این مطالعه، بررسی اثرات سمیت سلولی عصاره باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و باسیلوس کوآگولانس بر روی یکی از رده‌های سلولی سرطان معده و پروستات بود.

#### مواد و روش کار

تهیه سوسپانسیونهای میکروبی  
سوش‌های میکروبی استاندارد باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی ATCC 39392 از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی سازمان پژوهش‌های صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه و در محیط کشت مایع من روگوزا شارپ (MRS broth) کشت داده شد. باسیلوس کوآگولانس نیز

آنزیمهای مضر رودهای هستند که قادرند ترکیبات پیش-جهش‌زا و پیش-سرطان‌زا را به ترکیبات جهش‌زا و سرطان‌زا تبدیل کنند. از جمله این آنزیمها میتوان به گلوکوروینداز، نیتروردوکتاز، گلیکوکولیک اسید هیدرولاز، آزوردوکتاز و  $\alpha$ - $\gamma$  هیدروکسیلاز اشاره داشت (۸). لاکتوباسیلوس کازئیسویه شیروتا قادر است فعالیت سه آنزیم- $\beta$  گلوکوروینداز، نیتروردوکتاز و آزوردوکتاز را به طور قابل توجه کاهش دهد (۱۰). ثابت شده است که کاهش فعالیت آنزیمهای مدفوعی، خطر ابتلا به سرطان روده را کاهش می‌کاهد (۱۱).

علاوه بر پروبیوتیکها، سایر باکتریهای رودهای مانند اشیریشیا، باکترئیدس و کلستریدیوم نیز توانایی متصل شدن به آمینهای با حلقه ناهمگون را دارا بوده و این توانایی در سلولهای زنده نسبت به سلولهای مرده بیشتر است. ترکیبات سمی متصل شده به باکتریها، همراه با دفع شدن آنها در مدفوع، از بدن خارج میشوند (۱۲). پروبیوتیکها از جمله لاکتوباسیلوسها و بیفیدوباکتریوم‌ها قادرند ترکیبات -N نیتروزآمین که عامل مهم سرطانزایی روده و مثانه شناخته شده‌اند را تجزیه نموده و اثر جهش‌زایی آنها را به طور موثر کاهش دهند (۱۳). لاکتوباسیلوس کازئیسویه شیروتا نیز از جمله باکتریهای تخریب‌کننده ترکیبات نیتروزه است (۷). دیواره سلولی باکتری‌های پروبیوتیک از طریق تحریک و تقویت پاسخ واکنش ایمنی بدن قادر به کاهش و یا توقف رشد تومورها در مراحل اولیه هستند. مرگ سلولی توسط نکروز باعث ایجاد استرس اکسیداتیو و تولید تعداد زیادی سایتوکین‌های پیش‌التهابی می‌شود. در مقابل، مرگ بر اثر آپوپتوز یک رویداد کنترل شده‌ای است که معمولاً با حداقل از دست دادن یکپارچگی غشاء تا مرحله بعدی یا نکروز ثانویه همراه است. این نوع مرگ سلولی اغلب با فاگوسیتوز توسط ماکروفاژهای بافتی ساکن

اکسید در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت و هر ۳ روز یکبار محیط کشت تعویض می گردید.

### سنجش سمیت سلولی به روش **MTT (Dimethyl thiazole - 2 and 5 diphenyltetrazolium bromide)**

در ابتدا محیط کشت از سطح سلول ها در مرحله قبل برداشته شده و به منظور جدا شدن سلول ها از کف فلاسک یک میلی لیتر تریپسین و پس از حدود ۲ دقیقه، ۱ میلی لیتر محیط کشت اضافه و این سوسپانسیون سلولی در ۱۲۰۰ rpm سانتریفوژ می گردید. سپس مایع بالای رسوب را جدا نموده و به رسوب ۱ میلی لیتر محیط کشت اضافه می گردید. در مرحله بعد سلول های جدا شده شمارش می گردید بدین شکل که ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی و ۱۰ میکرولیتر تریپان بلو روی لام نئوبار ریخته و تعداد سلول های زنده شمارش می گردیدند. سپس به ۱۸۰ میکرولیتر محیط کشت و ۲۰ میکرولیتر از غلظتهای مختلف

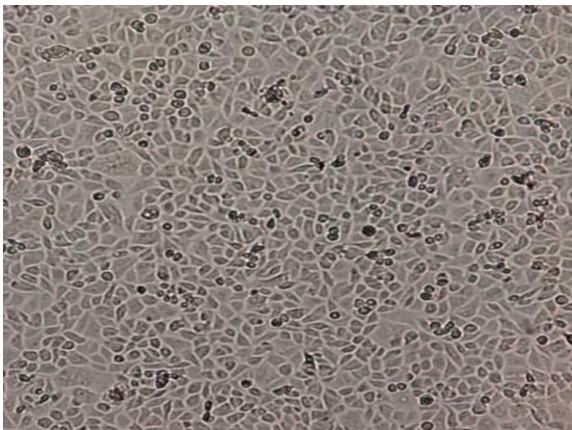
عصاره باکتریایی در هر چاهک، تعداد ۱۰,۰۰۰ سلول، اضافه شد. گروه دیگری از سلول ها نیز در این مطالعه تجربی به عنوان شاهد، بدون افزودن عصاره باکتریایی و فقط با افزودن Pbs به جای عصاره، مورد آزمایش قرار گرفته و هر آزمایش ۸ بار تکرار گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر محلول MTT به هر چاهک اضافه و به مدت ۴ ساعت در تاریکی انکوباتور حاوی دی اکسید کربن قرار داده شد. در این مدت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری سول های زنده، رنگ زرد MTT را به کریستالهای فورمازان بنفش رنگ که نامحلول هستند تبدیل می نمود. سپس محیط رویی را خارج نموده و پس از افزودن ۵۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک، ۲۰ دقیقه در انکوباتور قرار می گرفت. در این مدت کریستال های فورمازان حل می گردید. در مرحله آخر جذب نوری با طول موج های ۴۹۲ و ۶۳۰ نانومتر با دستگاه الایزا قرائت می گردید. در نهایت

از شرکت دانش بنیان تک ژن دارای گواهی کیفیت خریداری و در محیط کشت MRS broth کشت گردید. برای تهیه سوپرناتانت هر دو باکتری، پس از احیاسازی، باکتری ها به شکل مجزا در ۳۰۰ میلی لیتر محیط MRS Broth کشت و پس از ۴۸،۲۴ و ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری با غلظت های ۳۰۰۰ cfu در هر میلی لیتر استاندارد گردید. در هر یک از زمان های سه گانه ۱۰۰ میلی لیتر از محیط های کشت MRS Broth در ۱۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و سوپرناتانت ها یا مایع های رویی از فیلتر ۰،۲۲ میکرون عبور داده شد. سوپرناتانت ها به دو قسمت مجزا تقسیم می گردید. سوپرناتانت های اولیه دارای PH اسیدی بود ( PH=4 ولی به سوپرناتانت دوم، NaOH یک نرمال افزوده و PH خنثی می گردید) . ( PH=6 برای تهیه عصاره باکتریایی نیز، محیط های MRS Broth در زمان های ۴۸،۲۴ و ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری، ۵۰۰۰ rpm سانتریفوژ می گردید. در مرحله بعد مایع رویی را جدا نموده و رسوب سه مرتبه با PBS شستشو می گردید. از رسوب شسته شده در مرحله نهایی غلظت های ده، صد و هزار میکروگرم در هر میلی لیتر تهیه و در نهایت به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شد. لازم به ذکر است جهت اطمینان از غیر فعال شدن باکتر یها، مجدداً کشت صورت می پذیرفت.

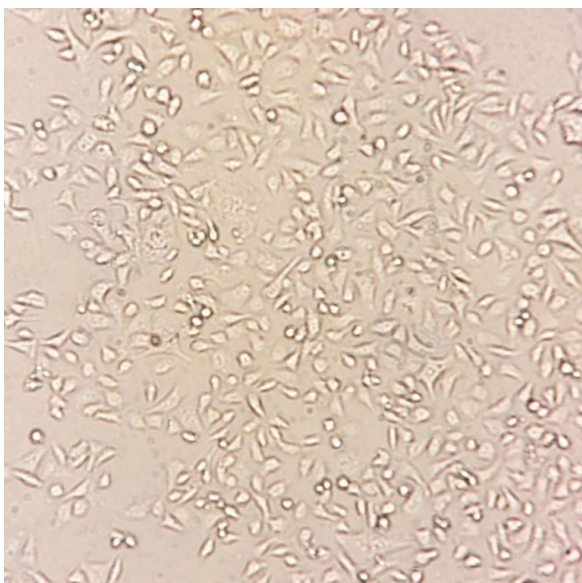
### کشت رده سلولی AGS و DU145

رده سلولی (AGS سرطان معده) و (DU145 سرطان پروستات)، از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه و پس از افزودن ۱۰ درصد FBS، ۱ درصد Pen strep و ۲ درصد گلوتامین به محیط کشت RPMI-1640 از شرکت Gibco، در فلاسک های کشت سلولی کشت داده شد و در انکوباتور دارای ۹۵ درصد رطوبت و ۵ درصد کربن دی

عصاره باکتری سمیت سلولی وابسته به غلظت نیز بر روی سلول های سرطانی معده و پروستات داشت به طوری که با افزایش غلظت عصاره ( یک میلی گرم بر میلی لیتر ) این فعالیت بیشتر گردید . در نهایت مقدار  $IC_{50}$  غلظتی از نمونه که موجب ۵۰ درصد مهار رشد سلول های سرطانی می شود) محاسبه و این نتایج در نمودار های زیر ترسیم گردید.



نگاره ۱- سلول های AGS تیمار شده با پروبیوتیک - سلول های چندشکلی چسبیده به کف فلاسک سلول های سرطانی و سلول های گرد تیره تر سلول های مرده می باشند



نگاره ۲- سلول های DU145 تیمار شده با پروبیوتیک - سلول های چندشکلی چسبیده به کف فلاسک سلول های سرطانی و سلول های گرد تیره تر سلول های مرده می باشند

درصد زنده بودن سلول ها با تقسیم جذب نوری سلول های تیمار نسبت به سلول های شاهد ضرب در ۱۰۰ محاسبه شده و نتایج حاصل از آن با نسخه ۲۲ نرم افزار آماری SPSS و با استفاده از آزمون  $t$  مستقل ( $p < 0.05$ ) مورد تجزیه و تحلیل قرار می گرفت.

## نتایج

تاثیر سمیت سلولی عصاره باکتری های پروبیوتیک بر رده

سلول سرطانی AGS و DU145

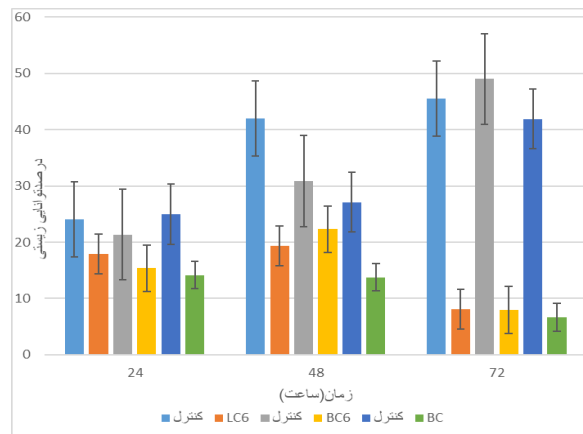
نتایج حاصل از سمیت سلولی تیمارهای مختلف ( رسوب باکتری لاکتوباسیلوس کازئی ، رسوب باکتری باسیلوس کوآگولانس ، سوپرناتانت باکتری لاکتوباسیلوس کازئی با  $PH=6$  ، سوپرناتانت باکتری لاکتوباسیلوس کازئی با  $PH=4$  ، سوپرناتانت باکتری باسیلوس کوآگولانس با  $PH=6$  ، سوپرناتانت باکتری باسیلوس کوآگولانس با  $PH=4$  ) نشان داد که صرفاً تعداد سلول های AGS تحت تیمار با سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی با  $PH=6$  (LC6) ، سوپرناتانت باسیلوس کوآگولانس با  $PH=6$  (BC6) و رسوب باسیلوس کوآگولانس ( BC) در هر سه زمان گرمخانه گذاری ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است. آنالیز آماری با کاربرد آزمون  $t$  نشان داد که هر چند تراکم سلولی در سلول های تحت تیمار های متفاوت ( سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی و باسیلوس کوآگولانس ، عصاره لاکتوباسیلوس) نسبت به گروه کنترل ((NC) پایین تر بود اما در برخی از زمان های گرمخانه گذاری این اختلاف تراکم معنی دار نبود. آنالیز آماری صرفاً در زمانهای ۴۸ و ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری باکتری موید تاثیر معنی داری ( $p < 0.05$ ) این عصاره بر روی سلول های سرطانی معده ( AGS) نسبت به گروه شاهد بود . البته در مورد رده سلولی DU145 صرفاً در ۷۲ ساعت این اختلاف معنادار بود (  $p < 0.05$  ) هم چنین

### بحث

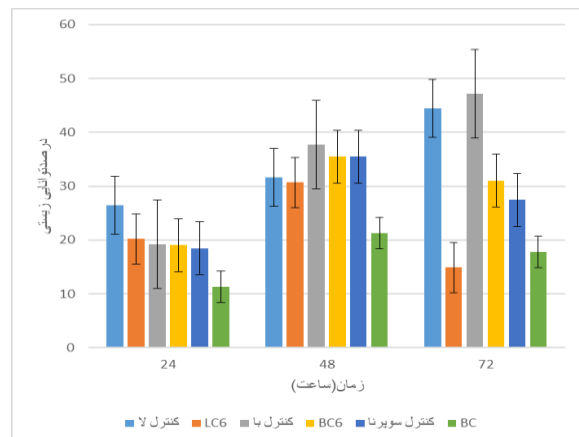
سرطان دومین علت مرگومیر پس از بیماریهای قلبی - عروقی در جهان است (۲۰). در ایران ۵۰ درصد سرطان های شایع کشور مربوط به دستگاه گوارش است و در این میان سرطان معده از همه شایع تر است. سرطان پروستات نیز یکی از شایعترین علت های مرگ و میر در مردان است به طوری که در ۷۰ درصد مردان سرطان پروستات دیده می شود. از سویی با افزایش امید به زندگی انتظار می رود که در آینده ای نزدیک میزان بروز و مرگ و میر این بیماری مهلک در کشور به سرعت افزایش یابد (۲۱). در حالت طبیعی به موازات افزایش تکثیر سلولی، افزایش مرگ سلولی نیز رخ خواهد داد، به طوریکه این دو با یکدیگر در تعادل قرار میگیرند. در سرطان، سلولها از این کنترل دقیق خارج شده و توده هایی به نام تومور تشکیل میگردد. در واقع سرطان یا نئوپلاسم، از یک سلول طبیعی که مکانیسم تکثیر آن دستخوش تغییر شده است، به وجود می آید (۲۲).

در ۳۰ تا ۵۰ سال گذشته، رادیوتراپی سیتوتوکسیک و شیمی درمانی به عنوان اقدامات اصلی درمان سرطان مورد استفاده قرار گرفته است که اثرات درمانی خاصی برای بسیاری از بدخیمی های خون و انواع خاصی از تومورها دارند (۲۳). در دهه های اخیر مقاومت به شیمی درمانی مشکل بزرگی محسوب گردیده و هم اکنون توجه بسیاری از دانشمندان را به خود جلب کرده است.

پروبیوتیکها، میکروارگانیسمهای غیر بیماریزایی هستند که در سیستم گوارشی افراد وجود داشته یامی توانند در قالب های مختلف وارد بدن گردیده و بر حسب نوع پروبیوتیک اثرات پادسرطانی بر سلول های میزبان القا نماید و به همین دلیل امروزه مطالعات گسترده ای در زمینه اثرات سمیت سلولی پروبیوتیک ها در حال انجام است (۲۴). لاکتوباسیلوس کازئی یکی از باکتری های پروبیوتیکی است که پتانسیل کاربردی ویژه ای



نمودار شماره ۱- مقایسه اثر سیتوتوکسیک پروبیوتیک ها بر رده سلول سرطانی AGS: محور عمودی درصد توانایی زیستی و محور افقی زمان های مختلف انکوباسیون در رده سلول سرطانی معده (ستون های رنگی به ترتیب از سمت چپ در مورد هر یک از زمان های سه گانه به ترتیب شامل کنترل، تیمار سوپرناتانت لاکتوباسیلوس با PH=6، کنترل، تیمار سوپرناتانت باسیلوس کوآگولانس با PH=6، کنترل، تیمار رسوب باسیلوس کوآگولانس). در ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری، بیشترین اثرمهارتی تیمارها بر روی سلول های سرطانی نسبت به گروه شاهد مشاهده می گردد.



نمودار شماره ۲- مقایسه اثر سیتوتوکسیک پروبیوتیک ها بر رده سلول سرطانی AGS: محور عمودی درصد توانایی زیستی و محور افقی زمان های مختلف انکوباسیون در رده سلول سرطانی معده (ستون های رنگی به ترتیب از سمت چپ در مورد هر یک از زمان های سه گانه به ترتیب شامل کنترل، تیمار سوپرناتانت لاکتوباسیلوس با PH=6، کنترل، تیمار سوپرناتانت باسیلوس کوآگولانس با PH=6، کنترل، تیمار رسوب باسیلوس کوآگولانس). در ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری، بیشترین اثرمهارتی تیمارها بر روی سلول های سرطانی نسبت به گروه شاهد مشاهده می گردد.

میزان سمیت آن بر روی این رده نسبت به رده سلولی AGS بسیار کمتر است.

تحقیقات متعددی بر روی بررسی اثرات سمیت سلولی برخی از پروبیوتیک ها بر روی رده های سلولی سرطانی انجام شده است. هم اکنون نقش پروبیوتیک های لاکتوباسیلی بر تسهیل درمان سرطان کولورکتال به خوبی شناخته شده است. اجزای سلولی سویه های باکتریایی کشته شده لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و لاکتوباسیلوس کازنینز دارای اثرات سایتوتوکسیک بر رده های سلولی سرطانی HT29 و Caco-2 است (۲۷). هم چنین در مطالعه دیگری مهار رشد سلول های سرطانی Caco-2 بر اساس غلظت باکتری لاکتوباسیلوس به اثبات رسیده است (۲۸). از آنجا که عصاره سلولی لاکتوباسیلوس کازنی به شکل وابسته به دوز باعث از بین رفتن سلول های سرطانی می شود لذا با نتایج این مطالعه همخوانی دارد. ترکیبات تولیدی توسط باسیلوس پلی منفیکوس نیز توانسته است رشد سلولهای سرطانی HT29 و سلولهای سرطانی Caco2 را به ترتیب ۵۶-۳۵ درصد و ۹۵ تا ۹۹ درصد مهار نماید. البته در مورد این باکتری، خشتی کردن سوپرناتانت تفاوت معناداری در اثر مهاری آن نداشت و می توان گفت که حالت اسیدی سوپرناتانت عامل اصلی مهار رشد سلولی نبوده است و احتمالاً ترکیبات غیر اسیدی در این مهار نقش داشته اند (۵). مهار رشد سلولهای توموری به وسیله بوتانول استخراجی از باسیلوس آدولستتیس نیز نشان داده شده است بطوری که غلظت ۲۰ میکرولیتری از بوتانول توانسته است تا ۷۰ درصد سلولهای سرطانی Caco2 را از بین ببرد (۲۹). مطالعات برخی از محققین از بررسی اجزای سلولی ده نوع پروبیوتیک بر یازده رده سلول سرطانی حاکی از آن است که عصاره سیتوپلاسمی و پپتیدوگلیکان باکتری های اسیدلاکتیک سبب مهار تکثیر سلول های سرطانی می گردد (۳۰). هم چنین عصاره سیتوپلاسمی لاکتوباسیلوس

در تولید فرآورده های شیری پروبیوتیکی مانند ماست دارد. این گونه خاص دارای pH و محدوده دمایی وسیعی است و مکمل رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تولید کننده آنزیم آمیلاز (آنزیم هضم کربوهیدرات) است. این باکتری هابه دلیل دار بودن ویژگی های منحصر به فردی از جمله هدف گیری اختصاصی تومور، نفوذ فعال در بافت توموری و ایجاد سمیت کنترل شده دارای جایگاه ویژه ای می باشد (۲۵). باکتریهای لاکتیکی پروبیوتیک دارای خواص پادجوش زای در برابر ترکیبات جهش زای شیمیایی نظیر آمین های با حلقه ناهمگون (HAS) ترکیبات N-نیتروزو (N-nitroso, بنزوپیرن و آفلاتوکسین B هستند. به نظر میرسد که سازو کار تبادل یونی در اتصال این ترکیبات به دیواره سلولی باکتریها نقش آفرینی نماید. آزمایشات نشان داده اند که آمینهای با حلقه ناهمگون (HAS) و آفلاتوکسین B1 به ترتیب از جمله ترکیباتی هستند که بیشترین و کمترین تمایل را در اتصال به سلولهای پروبیوتیک دارار هستند (۲۶). برخی از گونه های باسیلوس نیز از جمله پروبیوتیک ها محسوب می گردند. در مطالعه حاضر نیز اثرات سمیت سلولی عصاره سلولی باکتری باسیلوس کوآگولانسو سوپرناتانت هر دو باکتری باسیلوس کوآگولانس و لاکتوباسیلوس کازنیبر روی رده سلولی سرطان معده و پروستات مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثرات سمیت سلولی عصاره سلول باکتری در رده سلولی AGS و DU145 وابسته به زمان و غلظت است به طوری که با افزایش زمان گرمخانه گذاری و غلظت باکتری، اثرات سمیت سلولی بیشتر می گردید. بیشترین میزان سمیت سلولی در ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری و غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد. البته نتایج سمیت سلولی عصاره باکتری بر روی رده DU145 نشان داد که

### فهرست منابع

1. Mohagheghi S, Mousavi JS, Malekzadeh R, Parkin M. Cancer incidence in Tehran metropolis: the first report from the Tehran Population-based Cancer Registry, 1998–2001. 2009.
2. Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J, Loscalzo J. Harrison's principles of internal medicine, 19e: Mcgraw-hill New York, NY, USA.; 2015.
3. Mortazavian A, Razavi SH, Ehsani MR, Sohrabvandi S. Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms. 2007.
4. Vinderola CG, Reinheimer JA. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. *International Dairy Journal*. 2000;10(4):271-5.
5. Sharaf LK, Sharma M, Chandel D, Shukla G. Prophylactic intervention of probiotics (*L. acidophilus*, *L. rhamnosus* GG) and celecoxib modulate Bax-mediated apoptosis in 1, 2-dimethylhydrazine-induced experimental colon carcinogenesis. *BMC cancer*. 2018;18(1):1-13.
6. Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda F, Gil-Campos M, Gil A. Mechanisms of action of probiotics. *Advances in Nutrition* 10: S49–S66. 2019.
7. Mombelli B, Gismondo MR. The use of probiotics in medical practice. *International journal of antimicrobial agents*. 2000;16(4):531-6.
8. Ahmad A, Salik S, Boon YW, Kofli N, Ghazali AR. Mutagenicity and antimutagenic activities of lactic acid bacteria (LAB) isolated from fermented durian (tempoyak). *Malaysian J Heal Sci*. 2018;16:23-6.
9. De Vrese M, Offick B. Probiotics and prebiotics: effects on diarrhea. *Bioactive Foods in Promoting Health*. 2010:205-27.
10. Średnicka P, Juszczuk-Kubiak E, Wójcicki M, Akimowicz M, Roszko M.

کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم نیز در تحقیق دیگری اثر مهاری بر رشد برخی رده های سلول سرطانی داشته است (۳۱). در مطالعه دیگری نیز به القای مسیر میتوکندریایی آپوپتوز در سلول های سرطانی کولون (Caco2) توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس پرداخته شده است (۳۲). افزایش القای آپوپتوز در رده سلول کارسینوما LS513 نیز توسط لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نشان داده شده است (۳۳). ترکیبات حاصل از بیفیدوباکتریوم لاکتیس نیز از پیشرفت سرطان روده بزرگ در مدل های حیوانی ممانعت می کند (۳۴). ترکیبات محلول ترشحي لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس رامنوس باعث القای آپوپتوز در سلول های لوسمی های منوسیتی می گردد (۳۵). درنتایج به دست آمده در این تحقیق نیز مشاهده شد که سوپرناتانت ۷۲ ساعته بیشترین اثر را بر مهار رشد سلول های سرطانی در مقایسه با گروه شاهد داشته است که می تواند به دلیل مقدار بیشتر متابولیت های تولید شده در سوپرناتانت بوده و با نتایج سایر محققین همخوان است.

### نتیجه گیری

با توجه به اینکه از بین بردن سلول ها یا آپوپتوز فرایند تنظیمی مهمی در برابر عوامل سرطان زا دارا می باشد و از آنجا که این پروبیوتیک ها دارای چنین فعالیتی در از بین بردن سلول ها می باشند لذا با توجه به این اثرات سایتوتوکسیک در مورد عصاره سلولی باکتری باسیلوس کوآگولانس و سوپرناتانت باسیلوس کوآگولانس و لاکتوباسیلوس کازئی بر روی رده سلولی AGS و DU145 پیشنهاد می گردد که از این پروبیوتیک ها بعنوان مکمل دارویی به همراه شیمی درمانی در پیشگیری و درمان سرطان معده و پروستات استفاده گردد.

- Probiotics as a biological detoxification tool of food chemical contamination: A review. *Food and Chemical Toxicology*. 2021;153:112306.
11. Vivarelli S, Salemi R, Candido S, Falzone L, Santagati M, Stefani S, et al. Gut microbiota and cancer: from pathogenesis to therapy. *Cancers*. 2019;11(1):38.
  12. Rafter J. Are probiotics and other functional foods the medicines of future? *British J of nutrition*. 2002;88(1):589.
  13. Karpiński TM, Adamczak A. Anticancer activity of bacterial proteins and peptides. *Pharmaceutics*. 2018;10(2):54.
  14. Nami Y, Abdullah N, Haghshenas B, Radiah D, Rosli R, Khosroushahi AY. Assessment of probiotic potential and anticancer activity of newly isolated vaginal bacterium *Lactobacillus plantarum* 5BL. *Microbiology and Immunology*. 2014;58(9):492-502.
  15. Li X, Wang H, Du X, Yu W, Jiang J, Geng Y, et al. Lactobacilli inhibit cervical cancer cell migration in vitro and reduce tumor burden in vivo through upregulation of E-cadherin. *Oncology Reports*. 2017;38(3):1561-8.
  16. Isazadeh A, Hajazimian S, Shadman B, Safaei S, Bedoustani AB, Chavoshi R, et al. Anti-cancer effects of probiotic lactobacillus acidophilus for colorectal cancer cell line caco-2 through apoptosis induction. *Pharmaceutical Sciences*. 2020;27(2):262-7.
  17. Crittenden R, Martinez N, Playne M. Synthesis and utilisation of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. *International journal of food microbiology*. 2003;80(3):217-22.
  18. YanF, Polk DB. Probiotic bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. *Journal of biological chemistry*. 2002;277(52):50959-65.
  19. Siuta-Cruse P, Goulet J. Cell immobilization techniques for the preservation of probiotics. *Food Tech*. 2001;55:37.
  20. Hajian K, Firouzjahi A, Kia M. Pattern of age distribution of different cancers in Babol, 2001. 2003;27(3):239-45.
  21. Asmarian N, Jafari-Koshki T, Soleimani A, Ayatollahi SMT. Area-to-area poisson kriging and spatial bayesian analysis in mapping of gastric cancer incidence in Iran. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*. 2016;17(10):4587.
  22. Arshi A, Sharifi FS, Ghahfarokhi MK, Faghih Z, Doosti A, Ostovari S, et al. Expression analysis of MALAT1, GAS5, SRA, and NEAT1lncRNAs in breast cancer tissues from young women and women over 45 years of age. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*. 2018;12:751-7.
  23. Sitarz R, Skierucha M, Mielko J, Offerhaus GJA, Maciejewski R, Polkowski WP. Gastric cancer: epidemiology, prevention, classification, and treatment. *Cancer management and research*. 2018;10:239.
  24. Kopp-Hoolihan L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. *Journal of the American Dietetic Association*. 2001;101(2):229-41.
  25. Yavari M, Ahmadizadeh C. Effect of the Cellular Extract of Co-Cultured *Lactobacillus Casei* on BAX and Human  $\beta$ -Defensin 2 Genes Expression in HT29 Cells. *The Horizon of Medical Sciences*. 2020;26(4):364-81.
  26. Burns AJ, Rowland IR. Antigenotoxicity of probiotics and prebiotics on faecalwater-induced DNA damage in human colon adenocarcinoma cells. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2004;551(1-2):233-43.
  27. Taverniti V, Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes & nutrition*. 2011;6(3):261-74.



28. Er S, Koparal AT, Kivanc M. Cytotoxic effects of various lactic acid bacteria on Caco-2 cells. *Turkish Journal of Biology*. 2015;39(1):23-30.
29. Lee DK, Jang S, Kim MJ, Kim JH, Chung MJ, Kim KJ, et al. Anti-proliferative effects of *Bifidobacterium adolescentis* SPM0212 extract on human colon cancer cell lines. *BMC cancer*. 2008;8(1):1-8.
30. Kim JY, Woo HJ, Kim YS, Kim KH, Lee HJ. Cell cycle dysregulation induced by cytoplasm of *Lactococcus lactis* ssp *lactis* in SNUC2A, a colon cancer cell line. *Nutr Cancer* 2003; 46(2): 197-201.
31. Lee JW, Shin JG, Kim EH, Kang HE, Yim IB, Kim JY, et al. Immunomodulatory and antitumor effects in vivo by the cytoplasmic fraction of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium longum*. *J Vet Sci* 2004; 5(1): 41-8.
32. 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.
33. Baldwin C, Millette M, Oth D, Ruiz MT, Luquest FM, Lacrotix M. Probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus Casei* mix sensitize colorectal tumoral cells to 5-fluorouracil-induced apoptosis. *Nutr Cancer* 2010;62(3):371-8.
34. Le Leu RK, Hu Y, Brown IL, Woodman RJ, Young GP. Synbiotic intervention of *Bifidobacterium lactis* and resistant starch protects against colorectal cancer development in rats. *Carcinogenesis* 2010; 31(2): 246-51
35. Chiu YH, Hsieh YJ, Liao KW, Peng KC. Preferential promotion of apoptosis of monocytes by *Lactobacillus casei rhamnosus* soluble factors. *Clin Nutr* 2010; 29(1): 131-40

