مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۱۲، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۴۰۲
صفحه ۲۲۵-۲۱۶

10.61186/gebsj.12.2.216

Research Article
Genetic Engineering and Biosafety Journal 2024
Volume 12, Number 2, Pages: 216-225

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

پتاسیل ضد تکثیری سوپرناتانت *Lactobacillus casei* علیه رده های سلولی MCF-7 سرطان پستان و HT-29 سرطان کلورکتال

Antiproliferative potential of *Lactobacillus casei* supernatant against MCF-7 breast cancer and HT-29 colorectal cancer cell lines

زهرا حاجی مهدی نوری[۱]، فرزانه تفویضی*[۲]، کیومرث امینی[۳] ، نوشین خندان دزفولی[۴]، بابک خیرخواه[۵]

Zahra Haji Mehdi Nouri[1], Farzaneh Tafvizi*[2], Kumarss Amini [3], Nooshin Khandan dezfoli [4], Babak Kheirkhah[5]

۱- گروه زیست شناسی، واحد سیرجان، دانشگاه آزاد اسلامی، سیرجان، ایران ۲- گروه زیست شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران ۳ - گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی ساوه، ایران ٤ - گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد سیرجان، دانشگاه آزاد اسلامی، سیرجان، ایران ۵- گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

1. Department of Biology, Sirjan Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran. 2. Department of Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran. 3. Department of Microbiology, Faculty of Science, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran. 4. Faculty Member, Department of Microbiology, Sirjan Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran. 5. Department of Microbiology, Faculty of Science, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: *Corresponding Author, Email

farzanehtafvizi54@gmail.com , Farzaneh.Tafvizi@iau.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۷/۵)

Received: 2023/07/7 | Accepted: 2023/09/27 | Published: 2024/03/14

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی القای سمیت سلولی در سلول های سرطانی کولون (HT-29) و پستان (MCF-7) پس از تیمار با سوپرناتانت باکتری *Lactobacillus casei* و همچنین تغییرات بیان ژن های دخیل در آپوپتوز در شرایط *In vitro* انجام شد. پس از استخراج سوپرناتانت باکتری، تست MTT برای بررسی میزان زنده مانی سلول های سرطانی مورد بررسی تحت تیمار با غلظت های مختلف سوپرناتانت انجام شد و بیان ژن های دخیل در آپوپتوز در سلول های تحت تیمار با استفاده ازروش Real-Time PCR اندازه گیری شد. غلظت های ۳/۱۲۵ (P <۰/۰۱)، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ (P<۰/۰۰۱) میکروگرم بر میلی لیتر سوپرناتانت باکتری باعث کاهش معنادار در زنده مانی سلول سرطانی MCF-7 شد. همچنین کاهش معنادار در زنده مانی سلول سرطانی HT-29 تحت تیمار با غلظت های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شد. همچنین نشان داده شد غلظت IC_{50} سوپرناتانت برای دو رده سلول سرطانی HT-29 و MCF-7 با افزایش بیان ژن های پروآپوپتوز (*CASP3*) Caspase 3، (*CASP9*) Caspase 9، BCL2 associated X (*BAX*)، و کاهش بیان ژن (*BCL2*) BCL2 apoptosis regulator همراه است که در نهایت به القای آپوپتوز و مرگ برنامه ریزی شده سلول در هر دو رده سلول سرطانی می انجامد. سمیت سلولی قابل اغماض در سلول های نرمال HFF در مقایسه با سلول های سرطانی مشاهده شد. نتایج مطالعه نشان داد که سوپرناتانت *Lactobacillus casei* توانایی موثر و پتانسیل قابل توجهی در مقابله با سلول های سرطانی پستان و کلورکتال دارد.

واژه‌های کلیدی

آپوپتوز،
سرطان پستان،
سرطان کلورکتال،
سوپرناتانت،
Lactobacillus casei

Haji Mehdi Nouri Z, Tafvizi F, Amini K, Khandandezfoli N, Kheirkhah B. Antiproliferative potential of Lactobacillus casei supernatant against MCF-7 breast cancer and HT-29 colorectal cancer cell lines. Genetic Engineering and Biosafety Journal 2023; 12 (2) :216-225. doi:

10.61186/gebsj.12.2.216
URL: http://gebsj.ir/article-1-465-fa.html

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.216]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 12, Number 2, 2024

Abstract

This study aimed to investigate the induction of cytotoxicity in colon (HT-29) and breast (MCF-7) cancer cells after treatment with the supernatant of *Lactobacillus casei* bacteria, as well as changes in the expression of genes involved in apoptosis *in vitro*. After extracting the bacterial supernatant, the MTT test was performed to check the viability of the examined cancer cells treated with different concentrations of the supernatant, and the expression of genes involved in apoptosis was measured using the Real-Time PCR technique in the treated cells. Concentrations of 3.125 ($P<0.01$), 6.25, 12.5, 25, 50 and 100 ($P<0.001$) µg/mL of bacterial supernatant caused a significant decrease in MCF-7 cancer cell viability. Also, a significant decrease in the survival of HT-29 cancer cells was observed under the treatment with concentrations of 12.5, 25, 50 and 100 µg/mL. It was also shown that the IC_{50} concentration of the supernatant for two cancer cell lines, HT-29 and MCF-7, is associated with increased expression of pro-apoptotic genes Caspase 3 (*CASP3*), Caspase 9 (*CASP9*), BCL2 associated X regulator (*BAX*) and decreased expression of BCL2 apoptosis regulator (*BCL2*), which ultimately induces apoptosis and programmed death cell in both types of cells. Negligible cytotoxicity was observed in normal HFF cells compared to cancer cells. The results of the study showed that the supernatant of *Lactobacillus casei* has an effective ability and significant potential in dealing with breast and colorectal cancer cells.

Keywords: Apoptosis, Breast cancer, Colorectal cancer, Supernatant, *Lactobacillus casei*.

مقدمه

پس از بیماری های قلبی عروقی، سرطان دومین عامل مرگ و میر در سراسر جهان است (Wang Haidong *et al*., 2016). در کشورهای در حال توسعه، پیری جمعیت و افزایش عوامل خطر سرطان، میزان مرگ و میر ناشی از سرطان را افزایش داده است (Roshandel *et al*., 2019). مطالعات انجام شده در نقاط مختلف جهان سرطان های ریه، پستان، کولورکتال و پروستات را به عنوان چهار سرطان اصلی با میزان بروز بالا گزارش کرده اند. روشندل و همکاران افزایش بروز سرطان پستان و کولون را در ایران گزارش کرده است (Roshandel *et al*., 2018). درمان های کنونی سرطان پستان و کولون شامل شیمی درمانی، رادیوتراپی، هورمون درمانی و جراحی است. این روش ها می توانند بافت تومور را تا حدودی حذف کنند، اما به بافت های طبیعی نیز آسیب می رسانند (Lopes *et al*., 2017). علاوه بر این، عود تومور و مقاومت در برابر داروها نیز در طول درمان سرطان گزارش شده است (Hassan, 2019). در این راستا، توسعه یک روش جدید دارورسانی با داروهای مکمل مبتنی بر عصاره‌های گیاهی و باکتریایی می‌تواند به کاهش عوارض داروهای ضد سرطان به دلیل عوارض جانبی کمتر آن ها کمک کند (Jafari-Nasab *et al*., 2021; Lee *et al*., 2019).

پروبیوتیک ها موجودات زنده میکروسکوپی مهمی در محیط میکروبیوتای سالم انسان هستند (Roy and Trinchieri, 2017). گونه های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم پرمصرف ترین و شایع ترین پروبیوتیک ها هستند. باکتری های اسید لاکتیک (LAB) دارای برخی از فعالیت های سلامت بخشی برای انسان هستند که ارتباط نزدیکی با سرکوب پاسخ های آلرژیک و همچنین اثرهای ضد التهابی و ضد توموری دارند (Ding *et al*., 2018; Tukenmez *et al*., 2019). مطالعات نشان داده اند توده سلولی مرده و محصولات متابولیکی پروبیوتیک ها می توانند فعالیت های بیولوژیکی مشابه یا حتی بالاتری را در مقایسه با سلول های زنده از خود نشان دهند (Mojibi *et al*., 2019). باکتری های پروبیوتیک اسید لاکتیک (LAB) از جمله *L. acidophilus*، *L. casei*، *L. rhamnosus*، *B. longum* و *B. lactis* نشان داده اند که بروز تومورهای روده بزرگ و ضایعات پیش سرطانی ناشی از سرطان را در حیوانات آزمایشگاهی و همچنین در انسان کاهش می دهد. مطالعات متعددی به محصولات مشتق شده از باکتری

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.216]

های پروبیوتیک، از جمله سوپرناتانت (Khodaii et al., 2017)، عصاره اگزو پلی ساکارید (Wang Kun et al., 2014) و اجزای دیواره باکتریایی (Nozari et al., 2019) پرداخته اند. خواص عملکردی محصولات پروبیوتیک شامل سمیت سلولی و مهار تکثیر سلول های سرطانی با القای آپوپتوز و در نهایت مرگ سلولی است (Tiptiri-Kourpeti *et al*., 2016).

ژن های مسیر آپوپتوز میتوکندری توسط خانواده BCL2 هدایت می شوند که شامل دو گروه از ژن ها است. یک گروه ژن های ضد آپوپتوز شامل ژن *BCL2* و گروه دیگر ژن های آپوپتوز هستند که شامل *BAX* می شود. هنگامی که محرکی مانند پروبیوتیک ها سلول را به سمت آپوپتوز سوق می دهد، در واقع پروتئین های آپوپتوز را فعال می کند، بنابراین سیتوکروم c از میتوکندری آزاد می شود، کاسپاز-۹ به دنبال کاسپاز-۳ فعال می شود و در نهایت DNA تکه تکه می شود و باعث مرگ سلول می شود (Chobdar and Ahmadizadeh., 2020; LeBlanc et al., 2002). اگرچه شواهد قابل توجهی از نقش بالقوه پروبیوتیک LAB در پیشگیری از مراحل اولیه توسعه سرطان کولون حمایت می کند، اطلاعاتی در مورد نقش ضد سرطانی سوپرناتانت باکتری *L. casei* علیه دو رده سلول سرطانی HT-29 کولون وMCF-7 پستان وجود ندارد، بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی القای سمیت سلولی در سلول های سرطانی کولون و پستان پس از تیمار با سوپرناتانت باکتری *L. casei* و همچنین تغییرات بیان ژن های دخیل در آپوپتوز در شرایط *In vitro* انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه سوپرناتانت باکتری

در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی، سوش استاندارد باکتری *L. casei* (*Lactobaciluss Casei*) با شماره دستیابی 6904 از مرکز ذخایر زیستی و ژنتیک ایران به صورت کشت جامد تهیه شد. جهت تهیه سوپرناتانت از پروتکل ارائه شده در مطالعه راجوکا و همکاران استفاده شد (Rajoka et al., 2018). بطور خلاصه، باکتری *L. casei* در ۵۰ میلی لیتر محیط MRS کشت شد و در انکوباتور 30 °C به مدت ۱۸ ساعت، انکوبه شد تا باکتری فعال شد. سپس به ۱۰۰ میلی لیتر محیط MRS مایع، ۱ میلی لیتر از محیط باکتری اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت در انکوبه شد. بعد از ۷۲ ساعت به منظور جمع آوری مایع رویی کشت باکتری (سوپرناتانت)، سانتریفیوژ در دور rpm ٦٠٠٠ (آلمان Hettich) در دمای آزمایشگاه به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد و محلول سوپرناتانت، بوسیله دستگاه فریز درایر (آلمان Alpha 1-2 LD Plus, Christ) خشک و وزن شد. pH مایع رویی جمع آوری شده با استفاده ازNaOH (آلمان Merk)، ۷/۳ تنظیم شد و در دمای ٤°C در ظروف تیره در یخچال نگهداری شد.

کشت سلول و بررسی سمیت سلولی

رده های سلولی آدنوکارسینوم کولورکتال انسانی HT-29 (کد C154) و آدنوکارسینومای پستان انسان MCF-7 (کد C135) و سلول های نرمال فیبروبلاست انسان (HFF) از انسیتو پاستورایران خریداری شد. به طور خلاصه، ١٠٤ سلول/ چاهک در پلیت های ٩٦ چاهکی کاشته شد و سپس یک شب در انکوباتور CO2 دار در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوباسیون شد. سپس سلول ها با غلظت های مختلف سوپرناتانت (۳/۱۲۵- ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) به مدت ٢٤ ساعت تحت تیمار قرار گرفتند. به منظور تعیین سمیت سلولی سوپرناتانت پروبیوتیک بر روی سلول های HT-29 و MCF-7، از روش رنگ سنجی MTT [3-[4،5-dimethylthiazol-2-yl]-2،5-diphenyltetrasolium bromide] استفاده شد. سپس MTT به چاهک ها اضافه شد و مخلوط واکنش به مدت ٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در دی اکسید کربن ۵ درصد نگهداری شد. سپس رنگ MTT حذف شد و بلورهای فورمازان در دی متیل سولفوکسید (DMSO) حل شدند. در نهایت، جذب با استفاده از ELISA Reader (Organon Teknika، هلند) در طول موج ۵۷۰ نانومتر ثبت شد و زنده ماندن سلول تعیین شد. با توجه به این نتایج، مقادیر IC_{50} و درصد زنده ماندن سلول گزارش شد (Dolati et al., 2021).

بیان ژن توسط qRT-PCR

سلول های HT-29 و MCF7 با IC_{50} سوئرناتانت باکتری به مدت ٢٤ ساعت نگهداری شدند. سپس استخراج RNA و سنتز cDNA به ترتیب بر اساس پروتکل سیناژن و Revert AidTM First Strand cDNA Synthesis Kit

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.216]

(Ferntas,Themoscientific,USA) انجام شد. میزان بیان ژن های β-Actin (ژن رفرانس)، Caspase 3 (*CASP3*)، Caspase 9 (*CASP9*)، BCL2 associated X (*BAX*)، BCL2 apoptosis regulator (*BCL2*) به روش SYBER Green تعیین شد. توالی آغازگرهای مورد بررسی در جدول ۱ ارائه شده است. در این مطالعه برای انجام واکنش، مخلوط واکنش حاوی ۱ میکرولیتر cDNA (یک نانوگرم)، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس 2x، ۱ میکرولیتر آغازگر فوروارد (۰/۵ mM) و ۱ میکرولیتر آغازگرمعکوس (۰/۵ mM) ، ۹/۵ میکرولیتر آب DEPC با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر تهیه شد. این واکنش با استفاده از دستگاه Bioneer (کره جنوبی) به شرح زیر انجام شد: ۹۵ درجه سانتیگراد برای ۱۰ دقیقه برای دناتوراسیون اولیه و در ادامه، ۴۰ سیکل، شامل دناتوراسیون در ۹۵°C برای ۲۰ ثانیه، دمای اتصال پرایمر ۵۷ °C به مدت۴۰ ثانیه (با توجه به هر ژن) و سنتز رشته DNA، ۷۲°C به مدت ۴۰ ثانیه تنظیم شد. سپس تجزیه و تحلیل بیان ژن با استفاده از نرم افزار REST) Representational State Transfer) انجام شد و P <۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

جدول ۱- آغازگرهای استفاده شده برای ژن های هدف.

Table1. Primers used for the target genes.

Gene	Reverse	Forward	Annealing
β-actin	5'-CACCATTGGCAATGAGCGGTTC-3'	5'-AGGTCTTTGCGGATGTCCACGT-3'	62.5
BAX	5'-TTGCTTCAGGGTTTCATCCAG-3'	5'-AGCTTCTTGGTGGACGCATC -3'	58.5
BCL2	5'-TGTGGATGACTGAGTACCTGAACC-3'	5'-CAGCCAGGAGAAATCAAACAGAG-3'	59.5
CASP9	5'-CATATGATCGAGGACATCCAG-3	5'-TTAGTTCGCAGAAACGAAGC-3'	55
CASP3	5'-AGAGGGGATCGTTGTAGAAGTC-3'	5'- ACAGTCCAGTTCTGTACCACG-3'	55

تحلیل آماری: داده ها با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) با استفاده از نرم افزار .Graphpad prism 8 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ارزیابی سطح بیان ژن ها در سلول های تیمار شده و تیمار نشده با آزمون تعقیبی HSD Tukey تعیین شد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار (انحراف معیار) در سه تکرار بیان شد و P <۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

سمیت سلولی القا شده توسط سوپرناتانت پروبیوتیک

ارزیابی فعالیت سایتوتوکسیک سوپرناتانت *L. casei* در غلظت های متفاوت علیه دو رده سلول های سرطانی MCF-7 و HT-29 و همچنین سلول نرمال HFF طی ۲۴ ساعت در شکل ۱ نشان داده شده است.

مطابق با این نمودار غلظت های ۳/۱۲۵ (P <۰/۰۱)، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ (P <۰/۰۰۱) میکروگرم بر میلی لیتر سوپرناتانت باکتری باعث کاهش معنادار در زنده مانی سلول سرطانی MCF-7 شد. اگرچه غلظت های ۳/۱۲۵ و ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر سوپرناتانت اثر معناداری بر زنده مانی سلول سرطانی HT-29 نداشت، ولی کاهش معنادار در زنده مانی سلول سرطانی HT-29 تحت تیمار با غلظت های ۱۲/۵، ۲۵ (P <۰/۰۵)، ۵۰ (P <۰/۰۱) و ۱۰۰ (P <۰/۰۰۱) میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شد. همچنین غلظت های ۳/۱۲۵، ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر سوپرناتانت موجب کاهش معنادار در زنده مانی سلول نرمال نشد درحالیکه غلظت های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر سوپرناتانت سمیت سلولی معناداری را در سلول های نرمال HFF القا کردند (P <۰/۰۰۱).

تغییرات بیان ژن های دخیل در آپوپتوز

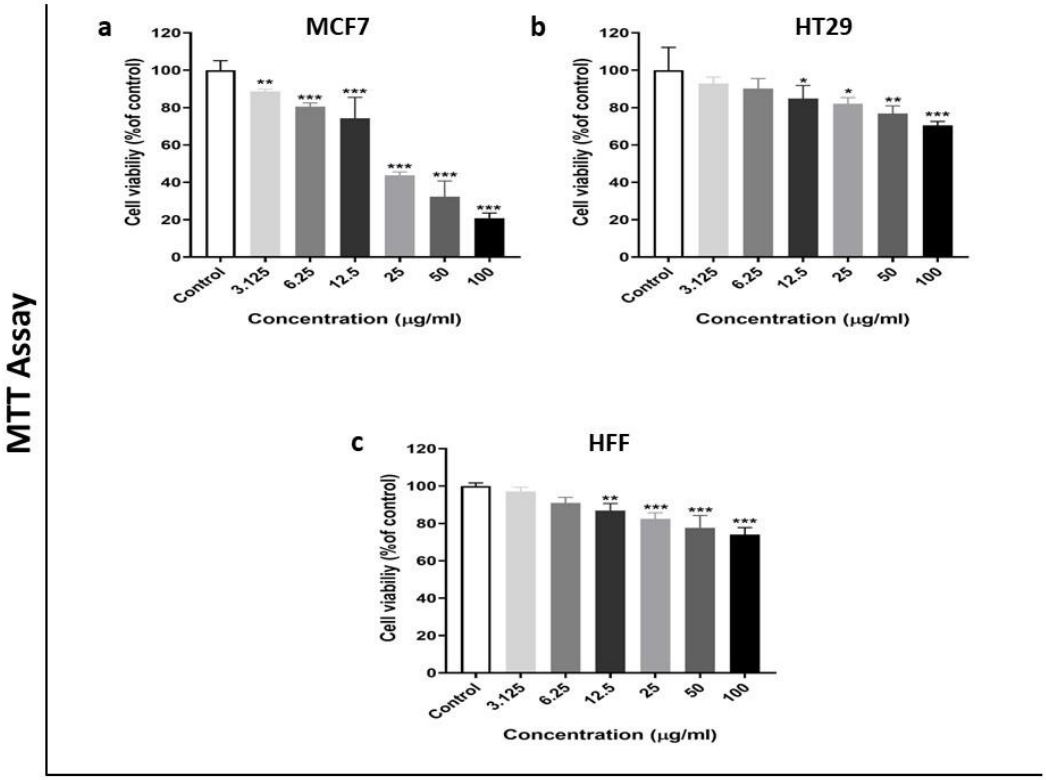
تغییرات بیان ژن های دخیل در آپوپتوز (*BAX*، *BCL2*، *CASP3* و *CASP9*) در سلول های سرطانی HT-29 و MCF-7 تحت تیمار با غلظت IC_{50} سوپرناتانت پروبیوتیک *L. casei* به ترتیب در شکل های ۲ و ۳ نشان داده شده است. مطابق با شکل ۲، کاهش معناداری در بیان ژن *BCL2* (P <۰/۰۵) و افزایش معناداری در بیان ژن های *BAX*، *CASP3* و *CASP9* (P <۰/۰۱) در سلول

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.216]

های سرطانی HT-29 پس از تیمار با غلظت IC_{50} سوپرناتانت باکتری مشاهده شد.

همچنین غلظت IC_{50} سوپرناتانت باکتری سبب کاهش معنی دار در بیان ژن *BCL2* (P <۰/۰۱) و افزایش آماری قابل توجهی در بیان ژن های *BAX*، *CASP9* (P <۰/۰۵) و *CASP3* (P <۰/۰۱) در سلول های سرطانی MCF-7 شد (شکل ۳).

استفاده از میکروبیوتای انسانی یکی از راه های جدید درمان و پیشگیری از سرطان است (Raskov *et al.*, 2017). پژوهش ها رابطه پیچیده ای بین میکرو فلور روده و ایجاد سرطان و اثرات آن بر درمان سرطان پیدا کرده است. مطالعات نشان داده اند که پروبیوتیک ها یکی از مهم ترین عوامل در تنظیم میکروبیوتای روده هستند. انواع خاصی از پروبیوتیک‌ها شناسایی شده‌اند که برای بهبود و درمان تعدادی از بیماری‌ها مانند دیابت، چاقی، عفونت‌های دستگاه گوارش و سرطان روده بزرگ استفاده می‌شوند (Dinan and Cryan, 2017). در مطالعه حاضر، جداسازی سوپرناتانت باکتری پروبیوتیک *L. casei* و اثرهای سیتوتوکسیک و ضد سرطانی آن بر سلول‌های HT-29 و MCF-7 مورد بررسی قرار گرفت.

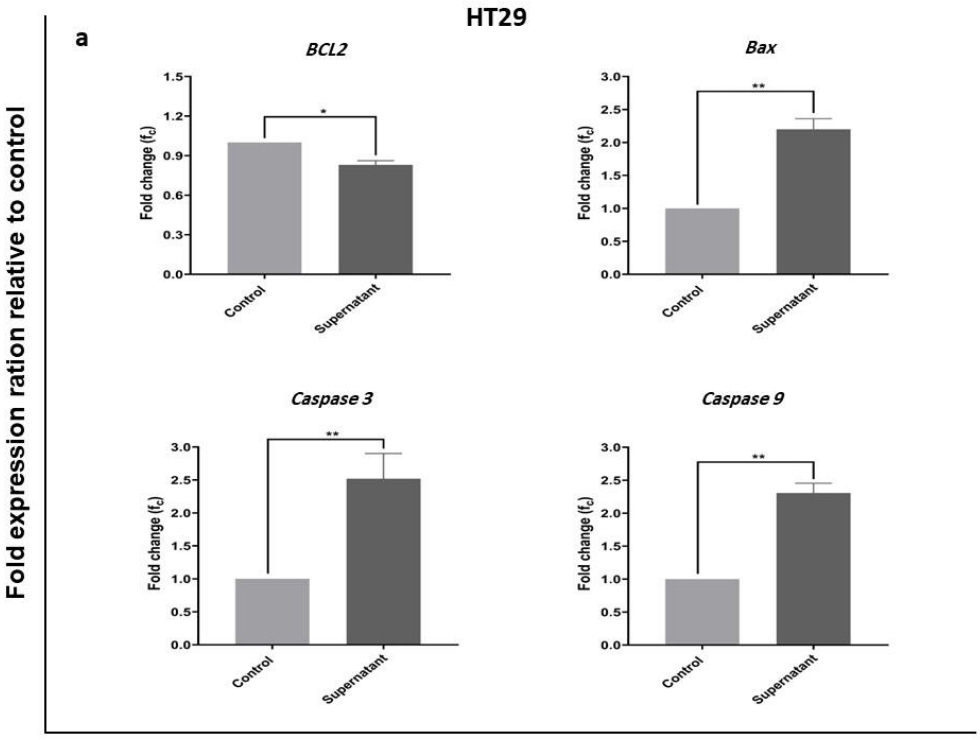


شکل ۱- زنده مانی سلول های a) MCF-7، b) HT-29 و c) HFF تحت تیمار با غلظت های مختلف سوپرناتانت پروبیوتیک *L. casei* با استفاده از تست MTT.

Fig 1. Cell Viability of a) MCF-7, b) HT-29, c) HFF cells treated with different concentrations of probiotic *L. casei* supernatant using MTT assay. P<0.05 significance was considered (* indicates P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.216]



شکل ۲- بیان ژن های دخیل در آپوپتوز *(BAX، BCL2، CASP3 و CASP9)* در سلول های سرطانی HT-29 تحت تیمار با غلظت IC_{50} سوپرناتانت پروبیوتیک *L. casei* با استفاده از روش Real-Time PCR. معناداری $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد (* نشان دهنده $P<۰/۰۵$، ** : $P<۰/۰۱$، *** : $P<۰/۰۰۱$) است.

Fig 2. Expression levels of genes involved in apoptosis *(BAX, BCL2, CASP3* and *CASP9)* in HT-29 cancer cells treated with IC_{50} concentration of *L. casei* probiotic supernatant using Real-Time PCR method. (* indicates P<0.05, **: P<0.01, *** : P<0.001).

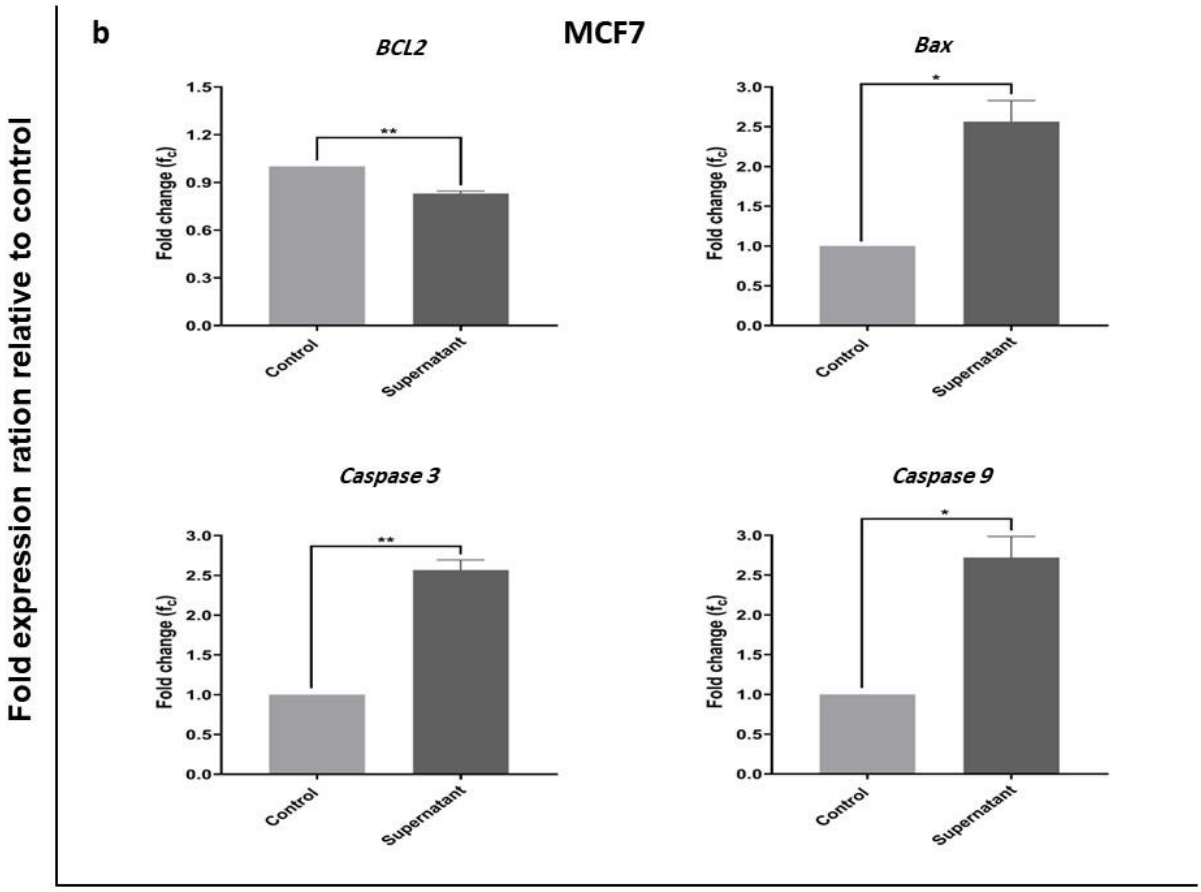
به طور کلی، مکانیسم هایی که باکتری های پروبیوتیک برای کاهش مواد موتاسیون زا و سرطان زا به کار می گیرند کاملاً شناخته شده نیست اما برخی از آن ها عبارتند از:

۱-اتصال به ماده موتاسیون زا و جلوگیری از جذب آنها توسط بدن و تجزیه برخی ترکیبات موتاسیون زا: El-Nezami در بررسی خود به این نتیجه رسید که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در شرایط In-Vitro توانایی اتصال به آفلاتوکسین را دارد. هم‌چنین لاکتوباسیلوس ها توانایی تجزیه ترکیبات N- نیتروزآمین موجود در مواد غذایی که از عوامل مهم ایجاد سرطان محسوب می شوند، را نیز دارد.

۲- کاهش فعالیت برخی آنزیم های مضر و مهار باکتری‌های مضر روده: آنزیم های مدفوعی مانند نیتروردوکتاز، آزوردوکتاز، بتا-گلوکورونیداز، گلیکولیک اسید هیدرولاز قادرند ترکیبات پیش جهش زا و پیش سرطان‌زا را به ترکیبات جهش زا و سرطان زا تبدیل کنند. این آنزیم ها توسط باکتری های مضر روده تولید می شوند و ثابت شده است که کاهش این آنزیم های مضر که رابطه مستقیمی با کاهش باکتری های مضر دارد، ریسک ابتلا به سرطان را کاهش می دهد. در بررسی Goldin و همکارانش، گزارش هایی حاکی از توانایی باکتری های پروبیوتیک در کاهش فعالیت سه آنزیم مضر بتاگلوکونیداز، نیتروردوکتاز، آزوردوکتاز به دست آمد.

۳- تولید متابولیت های ویژه و کاهش اسیدهای صفراوی: باکتری های پروبیوتیک برخی از متابولیت ها مانند بوتیرات، فولات وغیره تولید می کنند که با اثر روی سلول های اپی تلیال روده، تکثیر سلول های سرطانی را کاهش می دهند. Biffi و همکارانش، در مطالعه خود نشان دادند که تولید متابولیت ها توسط باکتری های پروبیوتیک با جلوگیری از تکثیر سلول های سرطانی ارتباط دارد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.216]



شکل ۳- بیان ژن های دخیل در آپوپتوز (*BAX*، *BCL2*، *CASP3* و *CASP9*) در سلول های سرطانی MCF-7 تحت تیمار با غلظت IC_{50} سوپرناتانت پروبیوتیک *L. casei* با استفاده از روش Real-Time PCR. معناداری $P<0.05$ در نظر گرفته شد (* نشان دهنده $P<0.05$، ** : $P<0.01$، *** : $P<0.001$) است.

Fig 3. Expression levels of genes involved in apoptosis (*BAX*, *BCL2*, *CASP3* and *CASP9*) in MCF-7 cancer cells treated with IC_{50} concentration of *L. casei* probiotic supernatant using Real-Time PCR method. (* indicates P<0.05, ** indicates P<0.01, *** indicates P<0.001).

٤- تحریک سیستم ایمنی: سلول های باکتری های پروبیوتیک قادرند سبب تحریک و تقویت سیستم ایمنی و افزایش میزان سیتوکین شوند، هم چنین عاملی ممانعت کننده از رشد تومور و کاهش سرطان می باشند. Sekine و همکارانش در بررسی خود، اثرات مثبت را در تحریک سیستم ایمنی موش ها در مهار مواد موتاسیون زا نشان دادند. هم چنین تحقیقات انجام شده، نقش مثبت باکتری های پروبیوتیکی را در کاهش عوامل جهش زا تایید می کنند (Ekrami et al,2019)

نتایج MTT این مطالعه نشان دادند غلظت های پایین سوپرناتانت (۳/۱۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر) توانست زنده مانی سلول سرطانی MCF-7 را کاهش دهد و این در حالی بود که غلظت های بالاتر این سوپرناتانت (۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر) موجب القای سمیت سلولی در سلول های سرطانی HT-29 شد. این نتایج نشان می دهد تاثیر ضدسرطانی سوپرناتانت پروبیوتیک *L. casei* در برابر سلول های سرطانی MCF-7 نسبت به سلول های سرطانی HT-29 بیشتر بود که با عدد IC_{50} کوچکتر در سلول های MCF-7 تیمار شده نمایش داده شد. سوپرناتانت این باکتری اثر سمیت قابل توجهی در سلول های نرمال نداشت. همچنین نشان داده شد غلظت IC_{50} سوپرناتانت برای دو رده سلول سرطانی HT-29 و MCF-7 با افزایش بیان ژن های پروآپوپتوز (*BAX*، *CASP3* و *CASP9*) و کاهش بیان ژن *BCL2* همراه است

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.216]

که در نهایت به القای آپوپتوز و مرگ برنامه ریزی شده سلول در هر دو رده سلول سرطانی می انجامد. به نظر می رسد افزایش سطح بیان *BAX* منجر به فعال شدن مسیر ذاتی میتوکندریایی آپوپتوز، افزایش بیان کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹ و آزادسازی سیتوکروم c و در نهایت القای آپوپتوز شد (Dehghani *et al*., 2021).

بر اساس گزارش ها، واکنش ضد سرطانی پروبیوتیک ها شامل تغییر ترکیب موجودات زنده میکروسکوپی روده، تخریب ترکیبات سرطان زا در حفره روده، تولید ترکیبات با قابلیت ضد سرطانی تقویت کننده سد روده در برابر سلول های سرطانی است (Baghbani-Arani *et al*., 2020). برخی از پروبیوتیک ها و محصولات آن ها نیز توانایی مهار تکثیر سلول های سرطانی و القای آپوپتوز سلول های سرطانی را نشان می دهند. با تنظیم بیان پروتئین های خانواده Bcl-2 و پروتئین های خانواده کاسپاز، آن ها می توانند سرطان را مهار کنند (Rosa et al., 2020). به عنوان مثال، *Lactobacillus paracasei K5* توانست با تنظیم بیان پروتئین‌های خانواده Bcl-2، آپوپتوز سلول‌های Caco-2 سرطان کولون انسانی را به روشی وابسته به دوز و زمان القا کند (Chondrou *et al*., 2018). *انتروکوکوس فاسیوم RM11* و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم RM28* که در شیر تخمیر شده یافت می شوند، به ترتیب ۲۱٪ و ۲۳٪ از تکثیر سلول های Caco-2 جلوگیری کرد (Thirabunyanon *et al*., 2009). مطالعه دیگر نشان داد، IC_{50} ها پس از درمان با سوپرناتانت های بدون سلول آماده شده بیفیدوباکتری ها، محدوده ای بین ٦٥ میکروگرم در میلی لیتر تا ۸۰ میکروگرم در میلی لیتر برای سلول های HT-29 و Caco-2 در ٤٨ ساعت تعیین شد که از IC_{50} مطالعه حاضر پایینتر بود و دلیل آن نوع سوپرناتانت و زمان تیمار می تواند باشد (Faghfoori *et al*., 2021). همچنین نشان داده است عصاره های خارج سلولی و داخل سلولی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می تواند باعث کاهش زنده مانی سلول های سرطانی کولون (WiDr) با IC_{50} در محدوده ۱۲/۰۱– ۳۱/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر شود که دلیل این تفاوت در IC_{50} با مطالعه حاضر می تواند به تفاوت در عصاره باکتریایی و تفاوت در نوع سلول تحت تیمار نسبت داده شود (ADIYOGA *et al*., 2022). سه بخش جدا شده از مواد خارج سلولی سویه *لاکتوباسیلوس هیلگاردی* AG12a نسبت به رده های سلولی Caco-2، IC_{50} بین ۲۰۰–۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر را نشان دادند که نزدیک به IC_{50} محاسبه شده به مطالعه حاضر بود (Pourramezan *et al*., 2020).

همسو با نتایج مطالعه حاضر نشان داده شد سوپرناتانت بسیاری از پروبیوتیک ها بدلیل دارا بودن ترکیبات ارگانیک اثر ضد سرطانی دارند. سوپرناتانت بدون سلول *Pediococcus*، یک باکتری پروبیوتیک جدا شده از محصولات لبنی سنتی، به طور قابل توجهی زنده ماندن سلول های MCF-7 را کاهش داد و منجر به مرگ ۸۵ درصد از سلول های سرطانی شد. همچنین افزایش آپوپتوز سلول های سرطانی را با افزایش بیان پروتئین BAX و کاهش بیان پروتئین BCL2 نشان داد (Jafari-Nasab *et al*., 2021). دولتی و همکاران نشان دادند سوپرناتانت *B. cogulance* توانست بیان ژن های *BAX*، *CASP3* و *CASP9* را طی ٤٨ ساعت در سلول های سرطانی MCF-7 افزایش دهد، در حالی که ژن *BCL2* کاهش قابل توجهی را نشان داد. مقدار IC_{50} سوپرناتانت این باکتری در برابر سلول های سرطانی به ترتیب ۷/٤، ۳/۷و ۱ میلی گرم در میلی لیتر به ترتیب در زمان های مواجهه ۲٤، ٤٨ و ۷۲ ساعت بود و همچنین IC_{50} این سوپرناتانت در برابر سلول های نرمال HFF در مطالعه آن ها ٦ میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه شد که از IC_{50} محاسبه شده در مطالعه ما بیشتر بود که دلیل آن می تواند تفاوت در نوع باکتری باشد (Dolati *et al*., 2021). دهقانی و همکاران همچنین نشان دادند سوپرناتانت *L. rhamnosus* توانست با القای آپوپتوز از تکثیر سلول های HT-29 به شیوه ای وابسته به زمان و وابسته به دوز جلوگیری کند که مشابه این تحقیق، افزایشی در بیان ژن‌های درگیر در مسیر میتوکندری ذاتی مشاهده شد در حالی که سطح بیان ژن *BCL2* کاهش معنادار نشان داد (Dehghani *et al*., 2021). همچنین مطالعه بهزادی و همکاران بیان کرد سوپرناتانت باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در غلظت های ۱۰ و ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر می تواند موجب القای سمیت سلولی در MCF-7 شود که با کاهش در بیان ژن *BCL2* و افزایش در بیان ژن P53 وقوع آپوپتوز در سلول سرطانی نشان داده شد (Behzadi *et al*., 2021).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.216]

نتیجه گیری کلی

یافته‌های ما نشان می‌دهد که سوپرناتانت *L. casei* می‌تواند آپوپتوز سلول‌های سرطان کولون و پستان را در مدل سلولی HT-29 و MCF-7 از طریق یک مسیر میتوکندریایی القا کند. با این وجود غلظت های بالاتر این سوپرناتانت برای سلول های نرمال نیز سمیت ایجاد نمود. همچنین نشان داده شد اثر ضدسرطانی سوپرناتانت این پروبیوتیک علیه سلول های سرطانی MCF-7 بیشتر از HT-29 بود که نیاز است به واکنش مولکولی این اتفاق به طور دقیق تری پرداخته شود. بطورکلی نتایج این مطالعه نشان می دهد که سوپرناتانت *L. casei* می‌تواند پس از بررسی های *in vivo* به عنوان یک استراتژی مؤثر در سرطان پستان و کلورکتال مورد استفاده قرار گیرد، زیرا که غلظت های پایین این سوپرناتانت با حداقل آسیب به سلول های نرمال، می توانند موجب القای چشم گیر آپوپتوز در سلول های سرطانی شوند.

منابع

Adiyoga, R., Arief, II. Budiman, C., Abidin, Z. (2022). In vitro anticancer potentials of *Lactobacillus plantarum* IIA-1A5 and Lactobacillus acidophilus IIA-2B4 extracts against WiDr human colon cancer cell line. Food Science and Technology 42, e87221. https://doi.org/10.1590/fst.87221

Baghbani-Arani, F., Asgary, V., Hashemi, A. (2020). Cell-free extracts of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* display antiproliferative and antioxidant activities against HT-29 cell line. Nutrition and Cancer ,72 (8),1390-1399. doi: 10.1080/01635581.2019.1685674

Behzadi, R., Hormati, A., Eivaziatashbeik, K., Ahmadpour, S., Khodadust, F., Zaboli, F., Fattahi, E., Jahanban-Esfahlan, R., Seidi, K.(2021). Evaluation of anti-tumor potential of *lactobacillus acidophilus* ATCC4356 culture supernatants in MCF-7 breast cancer. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents) ,21(14),1861-1870. doi: 10.2174/1871520621666201207085239

Chobdar, N., Ahmadizadeh, C. (2020). The effect of *Lactobacillus brevis* on Apoptosis and casp (casp8, casp3) gene Expression in HeLa Cancer Cells. Iranian Journal of Medical Microbiology, 14(1), 84-100.doi: http://dx.doi.org/10.30699/ijmm.14.1.84

Chondrou, P., Karapetsas, A., Kiousi, D., Tsela, D., Tiptiri-Kourpeti, A., Anestopoulos, I., Kotsianidis, I., Bezirtzoglou, E., Pappa, A., Galanis, A. 2018. *Lactobacillus paracasei* K5 displays adhesion, anti-proliferative activity and apoptotic effects in human colon cancer cells. Beneficial microbes 9(6), 975-983. doi: 10.3920/BM2017.0183.

Dehghani N, Tafvizi F, Jafari P. (2021). Cell cycle arrest and anti-cancer potential of probiotic Lactobacillus rhamnosus against HT-29 cancer cells. BioImpacts, 11(4), 245-252. doi: 10.34172/bi.2021.32.

Dinan, TG., Cryan, JF.(2017). The microbiome-gut-brain axis in health and disease. Gastroenterology Clinics, 46(1),77-89. doi: 10.1016/j.gtc.2016.09.007

Ding, C., Tang ,W., Fan, X., Wu, G.(2018). Intestinal microbiota: a novel perspective in colorectal cancer biotherapeutics. Onco Targets and therapy, 11, 4797-4810. doi: 10.2147/OTT.S170626.

Dolati, M., Tafvizi, F., Salehipour, M., Movahed, TK., Jafari, P. (2021). Inhibitory effects of probiotic *Bacillus coagulans* against MCF7 breast cancer cells. Iranian Journal of Microbiology, 13(6), 839-847. doi: 10.18502/ijm.v13i6.8089

Ekrami, M,. Mehrabian, S,. Rafiei Tababtaei, R.(2019) .Investigation about the mutagenic and carcinogenic effects probiotic bacteria with using salmonella typhimurium TA100 and rat liver microsom (S9). J animal physiology and development, 12(4),49-59

Faghfoori, Z., Faghfoori, MH., Saber, A., Izadi, A., Yari Khosroushahi, A. (2021). Anticancer effects of bifidobacteria on colon cancer cell lines. Cancer cell international, 21, 1-12. doi: 10.1186/s12935-021-01971-3

Hassan, Z. (2019). Anti-cancer and biotherapeutic potentials of probiotic bacteria. J Cancer Sci Ther, 11(1), 009-013. doi: 10.4172/1948-5956.1000575

Jafari-Nasab, T., Khaleghi, M., Farsinejad, A., Khorrami, S. (2021). Probiotic potential and anticancer properties of Pediococcus sp. isolated from traditional dairy products. Biotechnology Reports, 29:e00593. https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00593

Khodaii Z, Ghaderian, SMH., Natanzi, MM .(2017). Probiotic bacteria and their supernatants protect enterocyte cell lines from enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) invasion. International journal of molecular and cellular medicine, 6(3), 183-189. doi: 10.22088/acadpub.BUMS.6.3.183

LeBlanc, H., Lawrence, D., Varfolomeev, E., Totpal, K., Morlan, J., Schow ,P., Fong, S., Schwall, R., Sinicropi, D., Ashkenazi, A.(2002). Tumor-cell resistance to death receptor–induced apoptosis through mutational inactivation of the proapoptotic Bcl-2 homolog Bax. Nature medicine, 8(3), 274-81. doi: 10.1038/nm0302-274.

Lee, J-E., Lee, J., Kim, JH., Cho, N., Lee, SH., Park, SB., Koh, B., Kang, D., Kim, S., Yoo ,HM. (2019). Characterization of the anti-cancer activity of the probiotic bacterium Lactobacillus fermentum using 2D vs. 3D culture in

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.216]

colorectal cancer cells. Biomolecules, 9(10), 557. doi: 10.3390/biom9100557.

Lopes, CM., Dourado, A., Oliveira, R. (2017). Phytotherapy and nutritional supplements on breast cancer. BioMed research international 2017. Article ID 7207983. doi: 10.1155/2017/7207983.

Mojibi, P., Tafvizi, F., Torbati, MB. (2019). Cell-bound exopolysaccharide extract from indigenous probiotic bacteria induce apoptosis in HT–29 cell-line. Iranian Journal of Pathology 14(1), 41-51. DOI: 10.30699/IJP.14.1.41

Nozari, S., Faridvand, Y., Etesami ,A., Ahmad Khan Beiki, M., Miresmaeili Mazrakhondi, SA., Abdolalizadeh, J. (2019). Potential anticancer effects of cell wall protein fractions from *Lactobacillus paracasei* on human intestinal Caco-2 cell line. Letters in applied microbiology. 69(3), 148-154. doi: 10.1111/lam.13198

Pourramezan, Z., Oloomi, M., Kasra-Kermanshahi, R.(2020). Antioxidant and anticancer activities of *Lactobacillus hilgardii* strain AG12a. International Journal of Preventive Medicine. 11, 132. doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM_307_19. eCollection 2020.

Rajoka, MSR., Zhao, H., Lu, Y., Lian, Z., Li, N., Hussain, N., Shao, D., Jin, M., Li, Q., Shi, J. (2018). Anticancer potential against cervix cancer (HeLa) cell line of probiotic *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus paracasei* strains isolated from human breast milk. Food & function 9(5), 2705-2715. doi:https://doi.org/10.1039/C8FO00547H

Raskov, H., Burcharth, J., Pommergaard, H-C. (2017). Linking gut microbiota to colorectal cancer. Journal of cancer, 8(17), 3378-3395. doi:10.7150/jca.20497

Rosa, LS., Santos, ML., Abreu, JP., Balthazar., CF, Rocha., RS, Silva HL, Esmerino EA, Duarte MCK, Pimentel TC, Freitas MQ. (2020). Antiproliferative and apoptotic effects of probiotic whey dairy beverages in human prostate cell lines. Food Research International, 137,109450. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109450

Roshandel, G., Ghanbari-Motlagh, A., Partovipour, E., Salavati, F., Hasanpour-Heidari, S., Mohammadi, G., Khoshaabi, M., Sadjadi, A., Davanlou, M., Tavangar, S-M.(2019). Cancer incidence in Iran in 2014: results of the Iranian National Population-based Cancer Registry. Cancer epidemiology, 61, 50-58. doi: 10.1016/j.canep.2019.05.009.

Roshandel, G., Semnani, S., Fazel, A., Honarvar, M., Taziki, M., Sedaghat, S., Abdolahi, N., Ashaari, M., Poorabbasi, M., Hasanpour, S. (2018). Building cancer registries in a lower resource setting: The 10-year experience of Golestan, Northern Iran. Cancer Epidemiology, 52, 128-133. doi: 10.1016/j.canep.2017.12.014

Roy, S., Trinchieri, G. (2017). Microbiota: a key orchestrator of cancer therapy. Nature Reviews Cancer, 17(5), 271-285. doi: 10.1038/nrc.2017.13

Thirabunyanon, M,. Boonprasom, P,. Niamsup, P. (2009). Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from fermented dairy milks on antiproliferation of colon cancer cells. Biotechnology letters, 31, 571-576. doi: 10.1007/s10529-008-9902-3

Tiptiri-Kourpeti, A,. Spyridopoulou, K,. Santarmaki, V,. Aindelis, G,. Tompoulidou, E,. Lamprianidou, EE,. Saxami, G,. Ypsilantis, P,. Lampri, ES,. Simopoulos, C. (2016). *Lactobacillus casei* exerts anti-proliferative effects accompanied by apoptotic cell death and up-regulation of TRAIL in colon carcinoma cells. PloS one, 11(2), e0147960. doi: 10.1371/journal.pone.0147960.

Tukenmez, U,. Aktas, B,. Aslim, B,. Yavuz, S.(2019). The relationship between the structural characteristics of lactobacilli-EPS and its ability to induce apoptosis in colon cancer cells in vitro. Scientific reports, 9(1), 8268. doi: 10.1038/s41598-019-44753-8.

Wang, H,. Naghavi, M,. Allen, C,. Barber, RM,. Bhutta, ZA,. Carter, A,. Casey, DC,. Charlson ,FJ,. Chen, AZ,. Coates, MM. (2016). Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. The lancet, 388(100),1459-1544. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31012-1.

Wang, K,. Li, W,. Rui, X,. Chen, X,. Jiang, M,. Dong, M. (2014). Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. International journal of biological macromolecules, 63:133-139. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.10.036.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.216]