

## بررسی کاهش امکان سرطان با استفاده از چند سویه باکتری‌های پروبیوتیک در مقابل برخی از مواد کارسینوژن

صدیقه مهربیان<sup>۱</sup>، احمد مجد<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه تربیت معلم

<sup>۲</sup> استاد، گروه زیست‌شناسی تکوین سلول، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

### چکیده

**سابقه و هدف:** عوامل شیمیایی سرطان‌زا ممکن است توسط فعالیت میکروبی‌های ساکن در دستگاه گوارش ایجاد شوند. تحقیقات انجام شده، استفاده از محصولات پروبیوتیک را در کاهش خطر سرطان پیشنهاد می‌کنند. هدف از این پژوهش بررسی اثر مهارکنندگی باکتری پروبیوتیک بر گسترش سلول‌های جهش یافته و سرطانی بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه بنیادی، اثر ضد جهشی کشت‌های پروبیوتیک شامل بیفیدوباکتریوم بیفیدوس، بیفیدوباکتریوم لانکوم، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس، لاکتوباسیلوس رامنسوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس روی کاهش فعالیت جهشی و سرطانی دو ماده سرطان‌زای آزیدسدیم و نیتروزآمین با استفاده از سالمونلا و میکروزوم مطابق آزمایش Ames انجام شد. **یافته‌ها:** اثر ضد جهشی و ضد سرطانی کشت‌های پروبیوتیک مشاهده شد. درصد کاهش اثر سرطانی در اغلب موارد بالای ۴۰ درصد بود که نشان دهنده اثر ضد سرطانی قوی آنها می‌باشد.

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که کشت‌های پروبیوتیک اثر ضد جهشی و ضد سرطانی قوی دارند.

**واژگان کلیدی:** سرطان، پروبیوتیک، کارسینوژن، سالمونلا تیفی‌موریوم، میکروزوم.

### مقدمه

زندگی مدرن ذخایر طبیعی باکتری‌ها را در درون دستگاه گوارش کم کرده است. بعد از سال‌های متمادی که تنوع غذایی و برخورد با مواد شیمیایی موجود در غذا کم شده و نیز استفاده از آنتی‌بیوتیک و سایر داروها اصلاً تعجب‌آور نیست که نوع و مقدار فلور طبیعی بدنمان تغییر کند (۱). باکتری‌های پروبیوتیک معمولاً از باکتری‌های فلور طبیعی دستگاه گوارش هستند. بیفیدوباکتریوم‌ها به طور طبیعی باکتری‌های غالب کولون هستند. حدود ۲۵ درصد باکتری‌های مدفوعی بزرگسالان و ۸۰ درصد باکتری‌های مدفوعی کودکان

بیفیدوباکتریوم هستند و بیفیدوباکتریوم‌ها به عنوان یک عامل پروبیوتیک برای جلوگیری و درمان وسیع الطیف گاستروانتریت و سرطان بررسی شده‌اند (۲).

مصرف خوراکی پروبیوتیک‌ها می‌تواند خاصیت ضد کارسینوژنی داشته باشد و این عمل با خنثی‌سازی مسمومیت ژنوتوکسین‌ها در روده صورت می‌گیرد. اثبات این مسئله در آزمایشگاه با استفاده از کارسینوژن ۱ و ۲ دی‌متیل‌هیدرازین در کولون موش نشان داده شده است. مطالعات جدید نشان داده که ترکیبات متابولیتی با طول عمر کوتاه جدا شده از شیر که توسط سویه‌هایی نظیر لاکتوباسیلوس بلگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس تخمیر شده، در غیرفعال کردن عوامل خطرزا و کارسینوژن روده بسیار موثر می‌باشند (۳). مصرف پروبیوتیک‌ها منجر به تولید طیف متفاوتی از محصولات تخمیری هم‌چون غلظت بالایی از اسیدهای چرب با زنجیر کوتاه می‌گردد.

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه تربیت معلم، دکتر صدیقه مهربیان

(email: mehrbian\_s@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۹/۲۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۷/۱/۳۱

## مواد و روشها

در پژوهش بنیادی حاضر باکتری‌های مورد استفاده در آزمون Ames شامل سالمونلاتیفی موریوم TA 100 و سالمونلاتیفی موریوم TA104 بودند که مستقیماً از پروفیسور Ames دریافت گردیدند. این سویه‌ها دارای جهش در اپرون هیستیدین هستند. سویه‌های آزمایش‌شده دارای جهش‌های دیگری نیز هستند که توانایی آنها را برای تشخیص عوامل جهش‌زا به طور گسترده‌ای بالا می‌برد.

از انواع این جهش‌های ثانویه، موارد زیر در این تحقیق انجام شد:

۱- جهش rfa. در این آزمون از دیسک آغشته به کریستال ویوله ۰/۱ درصد و محیط کشت نوتریت آگار استفاده شد که مدت ۱۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

۲- جهش UvrB. حساسیت پرتو UV در سویه‌های TA 100 و TA104 جهش UvrB را تایید می‌کند. در این آزمون نیمی از سطح پلیت با کاغذ آلومینیومی پوشانده شد. در فاصله ۳۳ سانتی‌متر از لامپ UV به مدت ۸ ثانیه پرتوتابی انجام گرفت که با قرار دادن درب پلیت، ۱۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

۳- پلاسمید RFA. سویه‌های TA 100 و TA104 از نظر وجود فاکتورهای مقاومت به آمپی‌سیلین مورد آزمایش قرار گرفتند. در این آزمون دیسک آمپی‌سیلین (۱۰۰ میکروگرمی) روی محیط نوتریت آگار حاوی باکتری به مدت ۱۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد.

از آنجایی که بسیاری از ترکیبات برای بروز خصوصیات ضدجهشی و ضدسرطانی باید از نظر متابولیکی فعال شوند، افزودن یک عصاره استریل میکروزوم از بافت‌های پستانداران مانند موش الزامی است. در این تحقیق عصاره میکروزومی از هوموزنای کبد رت نر استفاده شد (وزن متوسط هر کبد حدود ۹ گرم بود). شش نوع باکتری تولیدکننده اسیدلاکتیک شامل بیفیدوباکتریوم لانکوم، بیفیدوباکتریوم بیفیدوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس، لاکتوباسیلوس رامنسوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس بصورت خالص تهیه شد. باکتری‌ها به محیط MRS برات تلقیح شدند و در شرایط بی‌هوازی در مجاورت ۵ درصد گاز دی‌اکسیدکربن و گاز پک به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند. آنها بر اساس صفات شکلی و بیوشیمیائی مانند توانایی رشد در دمای ۱۵ و ۴۵ درجه سانتیگراد تولید اسید و گاز از گلوکز، تخمیر فندهای مختلف و تولید  $NH_3$  از آرژینین بر

از طرفی مشاهده شده که پس از مصرف پروبیوتیک‌ها در کولون موش، آنزیم محافظت‌کننده گلوکاتایون ترانسفراز II القاء می‌گردد. مجموع این عوامل با هم موجب کاهش بار عوامل ژنوتوکسیک در روده و نیز باعث افزایش تولید عواملی می‌گردد که ترکیبات سمی را غیرفعال می‌سازد؛ به عنوان مثال بوتیرات یکی از این عوامل محافظتی می‌باشد که باعث کاهش خطر سرطان می‌گردد (۴).

مطالعه‌ای بر روی مدل حیوانی و آزمایشگاهی نشان داد که باکتری‌های اسیدلاکتیک موجود در شیرهای تخمیری می‌تواند اثرات مهارکننده روی گسترش زخم‌های پیش سرطانی و تومورها در مدل حیوانی داشته باشد. به علاوه، در آزمون Ames با استفاده از گونه بیفیدوباکتریوم انیمالیس اثر مهارکننده‌ای در برابر عوامل موتاژن مستقیم مانند مدل حیوانی نشان داده شد (۵).

در آزمون ایمز موتاسیون برگشتی در سالمونلاتیفی موریوم مورد بررسی قرار می‌گیرد و متداول‌ترین روش تعیین پتانسیل جهش‌زایی و سرطان‌زایی مواد شیمیایی است. در این آزمون از سویه‌های مختلف سالمونلاتیفی موریوم استفاده می‌شود که هر یک حاصل یک جهش انتخابی در اپرون هیستیدین خود می‌باشند. این جهش مانع از ساخت اسید آمینه هیستیدین می‌شود، در صورتی که سویه‌های وحشی یا پروتوتروف ( $His^+$ ) قادرند با استفاده از نیتروژن غیرآلی (فسفات آمونیوم) و در حضور منبع کربن مناسب (گلوکز) این اسید آمینه ضروری را بسازند (۶). طی تحقیقی که در سال ۲۰۰۳ توسط Horn و همکارانش انجام شد، مشخص گردید که سویه‌های سالمونلاتیفی موریوم مانند TA100، TA98، TA104 و نیز سویه‌های *E. coli*  $k_{12}$  جهت سنجش جهش‌زایی و سرطان‌زایی برخی از مواد شیمیایی مناسب هستند. طبق تئوری ایمز، ژنوتوکسیسیته و موتاژنیسیته به عنوان شاخص‌هایی در پتانسیل سرطان‌زایی محسوب می‌شوند. بر این اساس ۸۰ درصد مواد جهش‌زا، سرطان‌زا نیز می‌باشند. خاصیت منحصر به فرد این آزمون استفاده از میکروزوم کبدی (S9) برای فعال کردن برخی مواد جهش‌زا و سرطان‌زا است. بسیاری از این ترکیبات برای بروز خصوصیات جهش‌زایی یا سرطان‌زایی باید از نظر متابولیکی (اکسیداتیو یا احیائی) فعال گردند و از آنجایی که باکتری سالمونلاتیفی موریوم قادر به انجام این فعالیت نیست، لذا یک عصاره استریل میکروزومی از بافت پستانداران مانند rat را می‌توان به آزمون جهش‌زایی اضافه نمود (۷).

هدف از این پژوهش، شناسایی اثر مهارکننده باکتری‌های پروبیوتیک روی گسترش تومورها و سلول‌های سرطانی بود.

مراحل و شاهدهای مثبت و منفی مانند روش تعیین ضد جهش‌زایی انجام گرفت. محاسبه درصد بازدارندگی مطابق فرمولی که توسط ONG و همکارانش در سال ۱۹۸۶ ارائه گردید (۱۳)، انجام گرفت:

$$\text{درصد بازدارندگی} = [(A-B)/A] \times 100$$

در این فرمول B تعداد کلنی برگشتی در هر پلیت در حضور ماده جهش‌زا و نمونه مورد آزمایش و A تعداد کلنی برگشتی در هر پلیت در حضور کنترل مثبت است. در این فرمول تعداد کلنی موجود در پلیت کنترل منفی از صورت و مخرج کسر باید کم شود. زمانی که درصد بازدارندگی بین ۲۵ الی ۴۰ درصد باشد، اثر جهش‌زایی متوسط و در صورتی که بالای ۴۰ درصد باشد این اثر قوی می‌باشد. درصد بازدارندگی کمتر از ۲۵ منفی است. تعداد کلنی برگشتی در هر سویه آزمایشی با در نظر گرفتن شاهد و مثبت در مورد مایع روی کشت باکتری‌های پروبیوتیک اندازه‌گیری شد. ابتدا بین دو عامل جهش‌زا یعنی آزید سدیم و نیتروزامین مقایسه کلی انجام گرفت. سپس با استفاده از آزمون آماری لون و با کمک آزمون HSD تحلیل آماری صورت گرفت.

### یافته‌ها

تایید ژنوتیپ سویه‌های آزمایشی سالمونلاتیفی موریوم TA 100 و TA104 در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپی سویه‌های آزمایشی تیفی موریوم			
پلاسمید	جهش	جهش	
R- Factor	UvrB	rfa	
+	+	+	سالمونلاتیفی موریوم TA100
+	+	+	سالمونلاتیفی موریوم TA104

سویه‌های جهش یافته به علت فقدان نسبی سد لیپوپلی ساکارید در پوشش سطح باکتری کریستال ویوله بداخل دیواره نفوذ کرده و باعث مرگ باکتری شد و هاله حدود ۱۴ میلی‌متر را تشکیل داد. مقاومت به آمپی‌سیلین در هر دو سویه بعلت وجود پلاسمید R-Factor در آنها مشاهده شد. عدم رشد در ناحیه پرتودیده مشاهده گردید که نشان دهنده جهش UvrB می‌باشد. این سویه‌ها بیماریزا نیستند و توسط مهندسی ژنتیک در سراسر جهان استفاده می‌شوند. آنها علاوه بر جهش نسبت به هیستیدین، دارای جهش‌های دیگری بوده که توانایی آنها را برای تشخیص عوامل جهش‌زا بطور گسترده‌ای بالا می‌برد.

اساس کتاب برگگی مورد تایید قرار گرفتند. کلیه آزمایشات بر روی باکتری‌ها در مرحله رشد لگاریتمی صورت گرفت (۸).

جهت تهیه مایع روی کشت باکتری‌های پروبیوتیک (سوپرناتانت) و جداسازی آن، مایع روی کشت باکتری‌های پروبیوتیک (سوپرناتانت) با استفاده از فیلتر میلی‌پور ۰/۴۵ میکرون تهیه شد. پس از تعیین pH و خنثی‌سازی آن یون H2O2 آن نیز خنثی شد تا در مرحله بعدی تحقیق از آن استفاده شود (۹).

برای تعیین فعالیت ضد میکروبی سویه‌های پروبیوتیک مورد استفاده، در این بررسی با استفاده از مایع روی کشت (سوپرناتانت) و روش NccLs 2000 (۱۰) فعالیت مایع روی کشت بر علیه دو سویه سالمونلاتیفی موریوم TA100 و TA104 و باکتری استافیلوکوکوس ارئوس ATCC 8043 و اشرشیاکالی ATCC 8739 و آنتی‌بیوتیک جنتامایسین با استفاده از روش انتشار و سنجش قطر هاله عدم رشد انجام شد.

آزمون ضد جهش‌زایی بر اساس آزمون سالمونلامیکروزوم شرح داده شده توسط Ames (۱۱) و نیز آزمون تغییر یافته آن در سال ۲۰۰۵ (۱۲) انجام گرفت. این آزمون با افزودن ۰/۱ میلی‌لیتر از مایع روی کشت باکتری‌های پروبیوتیک مورد آزمایش به ۰/۱ میلی‌لیتر کشت تازه شبانه سالمونلاتیفی موریوم TA 100 و TA104 بطور جداگانه، و نیز ۰/۱ میلی‌لیتر از مواد جهش‌زای مورد آزمایش شامل آزیدسدیم و نیتروزامین و میزان این مواد (۱/۵) میکروگرم در هر پلیت، مواد جهش‌زا به طور جداگانه به لوله محتوی ۳ میلی‌لیتر تاپ آگار افزوده شد. به منظور انجام چرخه تقسیم سلولی، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۰/۵ میلی‌مولار هیستیدین و بیوتین نیز به هر لوله اضافه شد. محتویات لوله پس از ۳ دقیقه تکان‌دهی با شیکر به طور یکنواخت در سطح محیط گلوکز آگار حداقل گسترده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در این آزمون شاهد مثبت که حاوی ماده جهش‌زا و شاهد منفی که آب مقطر بود نیز در نظر گرفته شد. در هر آزمون از سه پلیت هم‌زمان استفاده شد تا آزمون ۳ بار تکرار شود. بعد از پایان دوره گرمخانه‌گذاری تعداد کلنی‌های برگشتی در نمونه شاهد مثبت و منفی و نمونه دارای ماده ضد جهشی بررسی شد.

در آزمون تعیین قدرت ضد سرطان‌زایی، علاوه بر افزودن موادی که در بالا ذکر شد، به هر یک از لوله شاهد مثبت و منفی و لوله حاوی ماده ضد جهش مخلوط S9 تهیه شده که بلافاصله از فریزر خارج شده و در دمای اطلاق ذوب شده بود، به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر به لوله‌های تاپ آگار اضافه شد و بقیه

جدول ۲. اثر ضد باکتریایی مایع روی حاصل از کشت ۶ گونه از باکتریهای پروبیوتیک

استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 8739	اشرشیاکلی ATCC 8739	سالمونلاتیفی موریوم TA100	سالمونلاتیفی موریوم TA104
۱۰/۵	۷/۶	-*	-
۹/۵	۸	-	-
۹/۵	۷/۲	-	-
۹	۷/۸	-	-
۸/۴	۸	-	-
۸	۶/۸	-	-

\*خانه‌هایی که خط کشیده شده‌اند به معنای عدم ایجاد هاله رشد توسط مایع رویی کشت است

جدول ۳- اثر ضد جهش زائی مایع رویی حاصل از کشت ۶ گونه باکتری پروبیوتیک در مقابل نیتروزآمین، سالمونلاتیفی موریوم و میکروزوم

سالمونلاتیفی موریوم TA100				سالمونلاتیفی موریوم TA104			
S9 +		S9 -		S9 +		S9 -	
کلنی	درصد	کلنی	درصد	کلنی	درصد	کلنی	درصد
برگشتی	بازدارندگی	برگشتی	بازدارندگی	برگشتی	بازدارندگی	برگشتی	بازدارندگی
۴۹۸	-	۳۷۸	-	۶۹۹	-	۴۹۸	-
۳۲	-	۳۵	-	۴۸	-	۳۲	-
۱۸۵	۶۳	۱۵۹	۶۶	۲۴۰	۶۳	۱۸۵	۶۳
۲۰۹	۵۸	۱۹۸	۵۹	۲۸۷	۵۸	۲۰۹	۵۸
۲۱۰	۵۸	۱۸۴	۵۸	۲۹۵	۵۸	۲۱۰	۵۸
۲۱۲	۵۷	۲۱۴	۵۷	۲۹۹	۵۷	۲۱۲	۵۷
۲۵۸	۴۸	۲۱۵	۵۰	۳۴۹	۴۸	۲۵۸	۴۸
۲۹۲	۴۱	۲۳۸	۴۳	۳۹۵	۴۱	۲۹۲	۴۱

نشان دادند، اما در مورد استرپتوکوکوس ترموفیلوس نسبت به ماده جهش‌زای آزید سدیم متوسط بود. بطور کلی نیتروزآمین اثر جهش‌زایی قویتری را از آزید سدیم نشان داد. نتایج آزمون ضد سرطانی با وجود میکروزوم کبد موش S9 در جدول ۳ و ۴ نشان داده شده است. درصد بازدارندگی با وجود S9 نیز بالای ۴۰ و قوی بود، در نتیجه این باکتری‌ها اثر ضد سرطانی نیز داشتند. جواب آزمون در مقابل هر دو باکتری TA100 و TA104 یکسان بود. اثرات ضد جهشی و ضد سرطانی باکتری‌های پروبیوتیک در هر دو آزمایش تایید می‌شود. متوسط تعداد کلنی برگشتی در هر پامیت در ارتباط با موتاژن اختلاف معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ).

مایع رویی کشت باکتری‌های پروبیوتیک برای اشرشیاکلی ATCC 8739 و استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 8043 سمی دارد، ولی همین غلظت برای باکتری‌های سالمونلاتیفی موریوم TA 100 و TA104 اثر سمی ندارد؛ لذا از همین غلظت برای بررسی خواص ضد جهش‌زایی استفاده شد. هاله‌های عدم رشد در اثر مجاورت مایع رویی حاصل از کشت با روش انتشار بین ۱۰/۵ - ۶/۸ میلی‌متر بود. (جدول ۲).

اثر ضد جهش‌زایی در حضور مواد جهش‌زای آزید سدیم و نیتروزآمین با استفاده از سالمونلاتیفی موریوم TA100 و TA104 در حضور نمونه‌های مورد آزمایش به صورت ممانعت ۱۰۰ درصد یا صفر درصد در جدول ۳ و ۴ نشان داده شده است.

در جدول ۳ و ۴ درصد بازدارندگی دو گونه بیفیدوباکتریوم و سه گونه لاکتوباسیلوس بالاتر از ۴۰ و اثر ضد جهشی قوی را

جدول ۴- مقایسه اثر ضد جهش زائی مایع روی حاصل از کشت ۶ گونه باکتری پروبیوتیک در مقابل آزیسدیم، سالمونلاتیفی موریوم و میکروزوم

سالمونلاتیفی موریوم TA100		سالمونلاتیفی موریوم TA104		سالمونلاتیفی موریوم TA102		سالمونلاتیفی موریوم TA97		سالمونلاتیفی موریوم TA98		سالمونلاتیفی موریوم TA100	
S9 <sup>+</sup>		S9 <sup>-</sup>		S9 <sup>+</sup>		S9 <sup>-</sup>		S9 <sup>+</sup>		S9 <sup>-</sup>	
درصد بازدارندگی	تعداد کلنی برگشتی	درصد بازدارندگی	تعداد کلنی برگشتی	درصد بازدارندگی	تعداد کلنی برگشتی	درصد بازدارندگی	تعداد کلنی برگشتی	درصد بازدارندگی	تعداد کلنی برگشتی	درصد بازدارندگی	تعداد کلنی برگشتی
-	۵۱۰	-	۳۷۸	-	۶۹۹	-	۴۹۸	-	۳۷۸	-	۳۷۸
-	۳۷	-	۳۵	-	۴۸	-	۳۲	-	۳۲	-	۳۲
۶۳	۱۸۵	۵۸	۱۵۷	۶۶	۱۴۰	۶۳	۱۸۵	۶۳	۱۸۵	۶۳	۱۸۵
۵۶	۲۲۸	۴۳	۲۱۴	۵۷	۲۹۹	۵۷	۲۱۲	۵۷	۲۱۲	۵۷	۲۱۲
۴۳	۲۶۷	۵۱	۱۸۴	۵۸	۲۹۵	۵۸	۲۱۰	۵۸	۲۱۰	۵۸	۲۱۰
۴۳	۲۹۷	۴۳	۲۱۵	۵۰	۳۴۹	۴۸	۲۸۵	۴۸	۲۸۵	۴۸	۲۸۵
۴۲	۲۹۸	۳۷	۲۳۸	۴۳	۳۹۵	۴۱	۲۹۲	۴۱	۲۹۲	۴۱	۲۹۲
۳۷	۳۷۰	۲۸	۳۱۰	۲۸	۵۰۱	۲۸	۳۵۷	۲۸	۳۵۷	۲۸	۳۵۷

پروبیوتیک‌ها اثر ضدباکتریایی دارند و می‌توانند در جلوگیری اسپهال ناشی از آنتی‌بیوتیک نقش مهمی را ایفا کنند، ولی تاثیر چندانی در درمان سایر اسپهال‌های به وجود آمده ندارند. البته همه مطالعات نتایج مثبتی در جلوگیری از اسپهال ناشی از آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان نداده‌اند (۱۴).

در این بررسی ما از دو ماده موتاژن شناخته شده آزیسدیم و نیتروزآمین استفاده نمودیم. شناسایی مواد یا عواملی که توانایی القاء جهش را دارند و نیز عواملی که می‌توانند از این جهش جلوگیری کنند، نقش مهمی را در حفظ سلامت افراد بازی می‌کنند (۱۵). در این میان بدیهی است که دسترسی به روشی ارزان، سریع و آسان جهت شناسایی مواد ضد سرطانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به همین جهت ما از آزمون Ames و میکروزوم کبد موش استفاده نمودیم. تاکنون بیش از ۵۰۰۰ ماده شیمیایی با استفاده از این آزمون مورد بررسی قرار گرفته‌اند. این آزمون برای تعیین جهش‌زایی و ضد جهش‌زایی مخلوط‌های بیولوژیکی و محیطی پیچیده نیز به کار می‌رود. تعداد قابل توجهی از عوامل شیمیایی که با این روش جهش‌زایی به اثبات رسیده، امروزه از گروه ترکیبات سرطان‌زا محسوب می‌شوند (۱۶). در پژوهش حاضر درصد بازدارندگی باکتری‌های پروبیوتیک مورد آزمایش از ۴۰ به بالا و قوی بود که با تحقیقات دانشمندان مبنی بر اینکه مصرف باکتری‌های پروبیوتیک یا عصاره این باکتری‌ها و یا ترکیباتی از آنها موجب کاهش سرطان کولون و کاهش ظهور تومورها می‌شود، مطابقت دارد. بررسی‌های آزمایشگاهی نشان داده که اجزای دیواره سلولی باکتری‌های پروبیوتیک با مواد موتاژن ترکیب شده و از شدت سرطان‌زایی آن‌ها می‌کاهد (۱۷).

## بحث

اکثر سویه‌های آزمایشی گالاکتوز منفی بودند؛ بنابراین به علت فقدان اپرون گالاکتوز دخیل در سنتز لیپوپلی‌ساکارید سطح باکتری در بیماری‌زایی نقص داشتند. جهش rfa باعث کاهش نسبی حاصل‌های لیپوپلی‌ساکاریدی می‌شود که سطح باکتری را می‌پوشاند و قابلیت نفوذ مولکول‌های بزرگی مثل benzo (a) pyrene را افزایش می‌دهد. این مولکول به طور معمول نمی‌تواند وارد سلول شود. در مورد دو سویه مورد استفاده این فاکتور تایید شد. فقدان ژن کد کننده سیستم ترمیمی (Excision repair) منجر به افزایش حساسیت در شناخت بسیاری از عوامل سرطان‌زا می‌شود و به دنبال حذف این ژن، سویه‌های حساس در برابر اشعه ماوراء بنفش ایجاد می‌شوند. به دلیل تکنیکی برش و حذف روی داده ژن UvrB در ژن بیوسنتز بیوتین هم گسترش یافته و در نتیجه این باکتری‌ها برای رشد به بیوتین نیاز دارند. دو سویه مورد استفاده در این تحقیق نیز دارای این ویژگی می‌باشند. در ضمن سویه‌های آزمایشی TA100، TA97، TA104، TA98 و TA102 دارای پلاسمید PKM101 بوده که حاوی R Factor می‌باشد. با سویه‌های حاوی پلاسمید می‌توان مواد سرطان‌زای بسیار ضعیفی را نیز شناسایی نمود که با سویه‌های فاقد این فاکتور قابل شناسایی نمی‌باشند. دو سویه مورد استفاده در این تحقیق نیز دارای فاکتور مقاومت بودند (۷).

تحقیقات نشان داده که لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها هر دو فلور طبیعی روده سالم هستند. با اینکه هر دو چه در روده کوچک و چه در روده بزرگ بزرگسالان فلور غالب نیستند، ولی حضورشان با سلامتی روده در ارتباط است.

### تشکر و قدردانی

با تشکر از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تربیت معلم که بودجه این کار تحقیقی را در اختیار اینجانب قرار دادند.

مصرف محصولات تخمیری حاوی باکتری‌های پروبیوتیک در کاهش فعالیت آنزیم‌های دفعی مانند گلوکوروניداز، ازوردوکتاز، نیتروردوکتاز و ۷هیدروژناز که نقش اصلی در سرطان کولون در انسان و حیوان را دارند و همچنین تجزیه نیتروزآمین که از عوامل موتاژن می‌باشند، موثر دانست.

### REFERENCES

1. Kruis W. Antibiotics and probiotics in inflammatory bowel disease. *Aliment pharmacol Ther* 2004; 4:75-78.
2. Picard C, Floramonti J. Bifidobacteria as probiotic agents- physiological effects and clinical benefits. *Aliment pharmacol Ther* 2005; 22:495-512.
3. Wollowski I, Rechkemmer G, Beatrice L, Pool Z. Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:4515 -55
4. Abrahamse SL, Pool-Zobel BL, Rechkemmer G. Potential of short chain fatty acids to modulate the induction of DNA damage and changes in the intracellular calcium concentration in isolated rat colon of rats. *Eur J Nutr* 1999; 38:76-83.
5. Brady LJ, Callader DD, Busta FF. The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. *J Nutr* 2000; 130:410-14.
6. Mortelmans K, Zeiger E. The Ames salmonella / micrisime mutagenicity assay. *Mutat Res* 2000; 455:29-60.
7. Horn R, Vargas VMF. Antimutagenic activity of extracts of natural substances in the salmonella / microsome assay. *Mutagenesis* 2003; 18:113-18.
8. Parvathy NS, Surendran PK. Biochemical characterization of Lactic acid. Bacteria isolated from fish and prawn. *Journal of Culture Collections* 2005; 4:48-52.
9. Navght MC, MacFie CEJ. Probiotic in clinical practice a clinical review of the evidence. *Nutr Res* 2006; 21:343-53.
10. NCCLS. 2000. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard, 7th ed. NCCLS document M2-A7. NCCLS, Wayne, Pa.
11. Sarhan MAA. Mutagenic activity of N-butyl and N-Hexyl Azide in the Salmonella mutagenicity test (Ames test). *J Appl Sci Res* 2007; 4:886-89.
12. Gomes-cameiro MR, Daniela MMD. Evaluation of mutagenic and antimutagenic activities of alpha bisabolol in the salmonella / microsome assay. *Mutat Res* 2005; 585:105-12.
13. Ong T, Wong W, Stewart JD. Chlorophyllin a potent antimutagen against environmental and dietary complex mixture. *Nutr Res* 1986;173:111-15
14. Shah N P. Symposium probiotic bacteria. Probiotic bacteria selective enumeration and survival in dairy foods. *J Dairy Sci* 2000;88:894-907.
15. Rafter J. Probiotic and colon cancer. *Best pract Res Clin Gastroentrol* 2003;17:849-59.
16. Shon MY, Park SKA. Anticancer and Antimutagenic activities after simulated digestion of ethanol extracts from white, red and yellow onions. *J Food Sci Nutr* 2006;11:278-84.
17. Gahyva SM, Siqueira JF. Pirect genotoxicity and mutagenicity of endodontic substances and materials as evaluated by two Prokaryotic test systems. *J Appl Oral Sci* 2005;4:387-92.