



تأثیر عصاره سلولی میکروارگانیزم‌های کفیر بر قابلیت متاستاز رده‌های سلولی سرطان پستان و گلیوبلاستوم

محمدرضا غلامی^۱، مونا پژوهی^۱، ایرج رشیدی^۱، فوزیه خانی‌همت‌آبادی^{۱*}، فاطمه ارغوانی^۲

۱- دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۲- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۰۵، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۷

چکیده

مقدمه: میکروارگانیزم‌های تشکیل‌دهنده کفیر می‌توانند در پیشگیری و درمان انواع گوناگون سرطان مؤثر باشند. هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر عصاره سلولی میکروارگانیزم‌های کفیر بر روی قابلیت متاستاز رده سلولی سرطان پستان و گلیوبلاستوم است.

مواد و روش‌ها: رده سلولی MDA-MB-231 و T98G پس از تکثیر با غلظت‌های مناسب سوپرناتانت و لیز سلولی میکروارگانیزم‌های کفیر تیمار شدند و زیست‌پذیری سلول‌ها توسط آزمون MTT/ارزیابی شد. سپس اثر این عصاره بر توانایی مهاجرت و تهاجم سلول‌ها ارزیابی گردید.

نتایج: بعد از ۲۴ ساعت تیمار با سوپرناتانت و لیز سلولی کاهش به‌صورت وابسته به غلظت و زمان در زنده‌مانی سلول‌ها مشاهده شد. میزان IC50 برای ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌ترتیب ۷۳/۸۵ و ۶۶/۱۳ میلی‌گرم/میلی‌لیتر برای سوپرناتانت و ۱۰۲/۳۹ و ۷۵/۸۸ میلی‌گرم/میلی‌لیتر برای لیز سلولی برای رده سلولی MDA-MB-231 بود. همچنین IC50 محاسبه شده برای ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌ترتیب ۳۰/۲۴ و ۱۰/۵۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر برای سوپرناتانت و ۵۳/۸۲ و ۲۳/۱۶ میلی‌گرم/میلی‌لیتر برای لیز سلولی برای رده سلولی T98G بود. همچنین بعد از ۲۴ ساعت تیمار با غلظت IC50 از سوپرناتانت و لیز سلولی کاهش معناداری در پتانسیل مهاجرت و تهاجم سلول‌ها مشاهده شد ($P=0/00$).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه نشان داد که کفیر به‌طور قابل توجهی سرعت رشد و متاستاز سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوم و پستان را کاهش داد. در نتیجه کفیر می‌تواند گزینه‌ی پیشنهادی برای درمان سرطان باشد.

واژه‌های کلیدی: متاستاز، سرطان پستان، گلیوبلاستوم.

*نویسنده مسئول: دانشکده پزشکی-گروه علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران، تلفن: ۰۹۱۲۹۳۰۸۶۰۸، نمابر: ۰۸۳۳۴۲۷۹۹۲۰، Email: fuziekhani@yahoo.com

ارجاع: غلامی محمد رضا، پژوهی مونا، رشیدی ایرج، خانی‌همت‌آبادی فوزیه، ارغوانی فاطمه. تأثیر عصاره سلولی میکروارگانیزم‌های کفیر بر قابلیت متاستاز رده‌های سلولی سرطان پستان و گلیوبلاستوم. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۴؛ ۲۰(۲): ۳۳-۲۵.



مقدمه

سرطان کولورکتال (CRC) سرطان یک بیماری است که به رشد غیرقابل کنترل بافت که در نتیجه عدم تعادل بین تقسیم سلولی و پدیده آپوپتوز به خاطر عوامل پیچیده به وجود می‌آید، اطلاق می‌شود (۱). علت این بیماری مجموعه‌ای از وقایع ژنتیکی و عوامل مرتبط با محیط و شیوه زندگی می‌باشد (۲ و ۳) و یکی از علل عمده مرگ و میر در سراسر جهان است (۴). در ایران بعد از بیماری قلبی و عروقی و تصادفات سومین عامل مرگ و میر می‌باشد (۵). تاکنون بیش از ۲۰۰ نوع مختلف سرطان شناخته شده است که اکثر آنها درمان قطعی ندارند اما برای جلوگیری از رشد و پیشرفت آنها از روش جراحی، رادیوتراپی، شیمی درمانی، هورمون درمانی، ژن درمانی استفاده می‌شود (۶). با توجه به این که داروهای شیمیایی مورد استفاده در درمان سرطان، علاوه بر ایجاد مقاومت دارویی، دارای اثرات جانبی نیز می‌باشند، مطالعه و بررسی عواملی با منشأ طبیعی، یکی از مهمترین اهداف تحقیق در حوزه سرطان است (۷ و ۸). بنابراین تلاش برای یافتن داروهای مؤثرتر و با عوارض جانبی کمتر در مورد سرطان‌ها مورد توجه می‌باشد.

سرطان سینه شایع‌ترین تومور بدخیم در سراسر جهان است که ۲۵٪ از کل موارد تشخیص داده شده سرطان و ۱۵٪ از کل مرگ و میرهای سرطان در زنان را تشکیل می‌دهد. اخیراً میزان شیوع این نوع سرطان در حال افزایش است (۹). متاستاز به سایر اندام‌های بدن علت اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان سینه است (۱۰-۱۲).

تومورهای مغزی یکی از ده سرطان منتهی به مرگ در ایران است. گلیوم، دسته‌ای از تومورهای درگیرکننده سیستم عصبی مرکزی هستند که از تقسیم بی‌رویه سلول‌های نوروگلیا ناشی شده است (۱۳). گلیوبلاستوم شایع‌ترین و حادترین نوع از تومورهای مغزی بدخیم در بزرگسالان نوعی از تومورهای سلول‌های آستروسایتیک با علایم بافت شناسی از قبیل افزایش میتوز، پلی‌مورفیسم، تکثیر اندوتلیال و نکروز می‌باشد و به سرعت به بافت‌های اطراف منتشر می‌شود (۱۴). روش‌های مورد استفاده جهت درمان گلیوم حاد جراحی و برداشتن تومور، پرتو درمانی، استفاده از داروهای ضد تشنج و کورتیکواستروئیدها و شیمی درمانی با عوامل آلکیلاسیون DNA مانند تموزولومید از این موارد می‌باشد (۱۶). درمان گلیوبلاستوم به دلیل وجود سد خونی-مغزی که مانع ورود داروهای شیمیایی به مغز می‌باشد و نیز بازگشت دوباره تومور که ناشی از ویژگی خود-نوسازی سلول‌های بنیادی گلیوم بوده، سبب گردیده که درمان‌های مذکور ضعیف انجام پذیرد و عودهای مکرر بروز نماید (۵ و ۶). این عامل موجب شده که میانگین بقای بیماران مبتلا به گلیوبلاستوم کاهش یابد. اثرات جانبی داروها، وقت‌گیر، پرهزینه بودن و عدم کارایی کامل این روش‌های درمانی، نیاز به

جستجو برای روش‌های جدید و راهکارهایی برای پیشگیری از ابتلا را توجیه می‌کند.

امروزه نقش پروبیوتیک‌ها در درمان و پیشگیری از سرطان‌ها بیش از پیش مورد توجه قرار دارد. نوشیدنی سنتی کفیر از محصولات پروبیوتیک رایج در دنیاست که از تخمیر شیر با استفاده از دانه‌های کفیر به‌عنوان آغازگر به‌دست می‌آید. قارچ‌های کفیر، دانه‌های سفید رنگ ژله‌ای حاوی جمعیتی از باکتری‌های اسیدلاکتیکی، باکتری‌های اسید استیکی، مخمر و قارچ، در یک ماتریکس پلی‌ساکاریدی هستند و فرآیند تخمیر اسیدی-الکلی در نتیجه رابطه همزیستی میان این میکروارگانیسم‌هاست. منشأ قارچ‌های کفیر، شیر استفاده شده و نحوه انجام فرآیند تخمیر، در تنوع میکروفلور تشکیل‌دهنده کفیر دخیل است (۱۷ و ۱۸). بر اساس آنچه بیان شد، فرض بر این است که میکروارگانیسم‌های تشکیل‌دهنده کفیر می‌توانند در پیشگیری و درمان انواع گوناگون سرطان مؤثر باشند. با توجه به این که تاکنون در مورد تأثیر میکروارگانیسم‌های تشکیل‌دهنده کفیر بر قدرت متاستاز که عامل اصلی مرگ و میر در انواع سرطان‌های می‌باشد، مطالعه‌ای انجام نشده است، هدف از این پژوهش تعیین اثر عصاره سلولی میکروارگانیسم‌های کفیر بر روی قابلیت مهاجرت و تهاجم بر رده سلول سرطانی MDA-MB-231 و T98G است.

مواد و روش‌ها

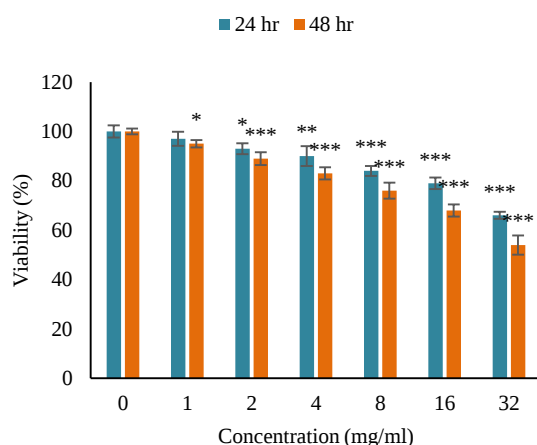
کفیر از شرکت کفیر نوش گلستان تهیه شد. قارچ کفیر جدا شد، محتویات آن همگن شد و با سانتریفیوژ جمع‌آوری شد. سپس سوپرناتانت و لیز سلولی کفیر تهیه شد. مایع‌رویی و رسوب به‌دست آمده از لیز سلولی لیز قارچ کفیر با دستگاه سونیکاتور در دمای ۲۰- درجه تا زمان آزمایش نگهداری شد (۱۹ و ۲۰).

رده سلولی MDA-MB-231 و T98G که از نوع سلول‌های چسبنده بوده از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. آنها در محیط کشت Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 (Gibco, Germany) که به آن ۱۰٪ سرم جنین گاو (Gibco, Germany) ۱٪ محلول آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین/استرپتومایسین (Gibco, Germany) اضافه شده است کشت داده شد. سلول‌ها درون انکوباتور در شرایط دمایی ۳۷°C و رطوبت ۹۰٪ و دی‌اکسیدکربن ۵٪ نگهداری شدند (۲۱).

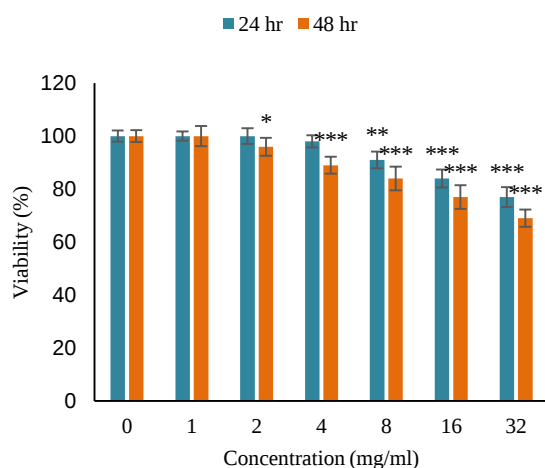
تعداد ۱۵ هزار عدد سلول در هرکدام از چاهک پلیت‌های ۹۶ چاهکی حاوی میزان ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت منتقل شد. بعد از ۲۴ ساعت سلول‌ها با غلظت‌های مختلف از لیزات سلولی، دیواره سلولی میکروارگانیسم‌های کفیر، تیمار و چند چاهک باقیمانده به‌عنوان کنترل و فاقد تیمار در نظر گرفته شد. پلیت‌ها در دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت در انکوباتور انکوبه شدند. در تیمار با عصاره

ساعت تیمار با سوپرناتانت در غلظت‌های ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر و بعد از گذشت ۴۸ ساعت تیمار با سوپرناتانت در غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر کاهش معنادار و به‌صورت وابسته به غلظت و زمان در زنده‌مانی مشاهده شد ($P < 0.05$). میزان IC_{50} محاسبه شده برای ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌ترتیب ۷۳/۸۵ و ۶۶/۱۳ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بود. بعد از ۲۴ ساعت تیمار با لیز سلولی در غلظت‌های ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر و بعد از گذشت ۴۸ ساعت تیمار با سوپرناتانت در غلظت‌های ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر کاهش معنادار و به‌صورت وابسته به غلظت و زمان در زنده‌مانی مشاهده شد ($P < 0.05$) میزان IC_{50} محاسبه شده برای ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌ترتیب ۱۰۲/۳۹ و ۷۵/۸۸ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بود.

A



B



شکل ۱-۳- اثر (A) سوپرناتانت و (B) لیز سلولی کفیر بر زنده‌مانی سلول‌های سرطان پستان

* نشان‌دهنده $P < 0.05$ ، ** نشان‌دهنده $P < 0.01$ و *** نشان‌دهنده $P < 0.001$ در مقایسه با کنترل

میکروارگانیزم‌های کفیر از غلظت ۱۲ تا ۶۵ میکروگرم به‌صورت سریال رقت استفاده شد. سپس ۲۰ میکرولیتر محلول (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide) (MTT) به هر چاهک اضافه و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ انکوبه شد. پس از انکوباسیون، محیط کشت درون چاهک‌ها تخلیه شد و به میزان ۱۰۰ میکرولیتر حلال DMSO به هر چاهک اضافه گردید. پس از چند دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق میزان جذب نوری آنها به‌عنوان معیاری از زنده‌مانی سلول‌ها سنجیده شد (۲۲).

برای بررسی تأثیر عصاره خام بر تحرک سلول‌ها از روش ترمیم زخم استفاده شد. کشت سلولی تک لایه در پلیت ۶ چاهکی انجام شد. سلول‌ها در حجم $10^6 \times 16$ سلول در میلی‌لیتر در حجم ۳ میلی‌لیتر محیط کاشته شدند. با کمک نوک پیپت استریل ۱ میلی‌لیتر، یک خط در ناحیه مرکزی کشت ایجاد شد. پس از شستشو با سالین بافر فسفات (Gibco, Germany)، محیط RPMI 1640 حاوی ۲٪ سرم جنین گاو با و بدون کفیر به چاهک‌ها اضافه شد، سلول‌های شناور اضافه حذف شدند. بسته شدن زخم از طریق مهاجرت سلولی در ۲۴ ساعت زیر میکروسکوپ عکس‌برداری شد. تصاویر به‌دست آمده توسط نرم‌افزار (MathWorks Inc.,) TScratch software, version 1.0 (MA, USA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (۲۳).

قابلیت تهاجم سلول‌ها با استفاده از CytoSelect 24-well cell invasion assay kit (Cell Biolab, San Diego, CA, USA) فیلترهای پلی‌کربنات $6/5$ میلی‌متری به اندازه ۸ میکرومتر منفذ بررسی شد. سلول‌های مهاجر با استفاده از متانول ۷۰٪ (Merck, Germany) به مدت ۱۰ دقیقه فیکس شدند. سپس با ۰/۲ درصد کریستال ویوله رنگ‌آمیزی (Merck, Germany) و شستشو با آب مقطر و خشک شدن هوا در دمای انجام شد. سلول‌های باقی مانده توسط میکروسکوپ نوری مشاهده شدند. برای کمی‌سازی تعداد سلول‌های متصل، کریستال ویوله در اتانول ۷۰٪ حل شده و میزان جذب هر نمونه در طول موج ۵۷۰ نانومتر سنجیده شد. با مقایسه شدت جذب نمونه‌های تیمار با نمونه‌های کنترل میزان تغییر توانایی تهاجم سلول‌ها تحت اثر داروها ارزیابی گردید (۲۳).

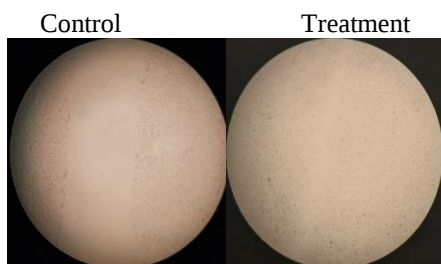
جهت بررسی آماری داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS Inc., (SPSS, Chicago, IL, USA) و روش تحلیل واریانس دو طرفه و آزمون tukey استفاده شد. ضریب معنی‌دار بودن داده‌ها نیز در سطح ۹۵٪ مشخص گردید.

نتایج

بررسی اثرات غلظت‌های مختلف سوپرناتانت و لیز سلولی کفیر بر قابلیت زنده ماندن سلول‌های MDA-MB-231 بعد از ۲۴، ۴۸ ساعت با آزمون MTT در شکل ۱-۳ A و B نشان داده شده است. بعد از ۲۴

بررسی اثرات سوپرناتانت و لیز سلولی کفیر بر قابلیت مهاجرت سلول‌های MDA-MB-231 بعد از ۲۴ ساعت با آزمون خراش در شکل ۳-۳ A و B نشان داده شده است. بعد از ۲۴ ساعت تیمار با در غلظت IC_{50} کاهش معنادار در مهاجرت مشاهده شد ($P < 0.05$). نمودار میله‌ای درصد بسته شدن خراش در شکل ۳-۴ نشان داده شده است.

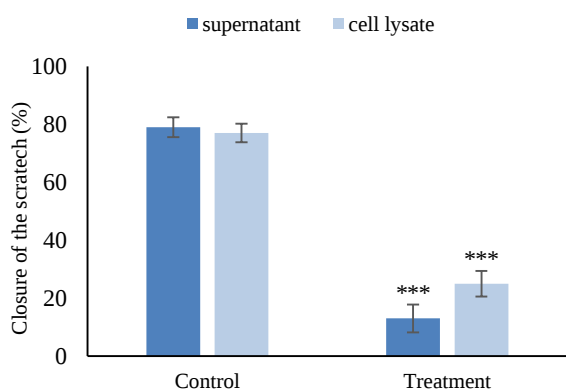
A



B



شکل ۳-۳- اثر (A) سوپرناتانت و (B) لیز سلولی کفیر بر توانایی مهاجرت سلول‌های سرطان پستان



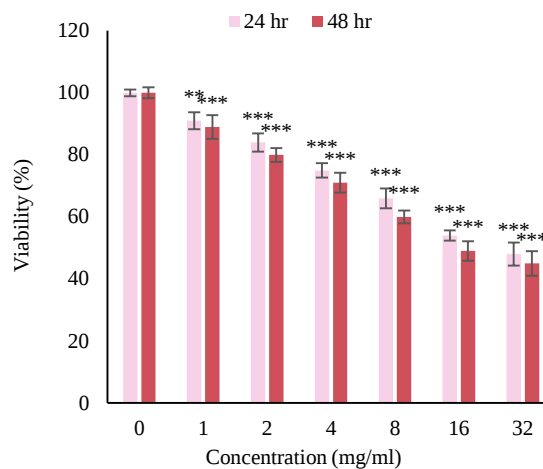
شکل ۳-۴- اثر سوپرناتانت و لیز سلولی کفیر بر مهاجرت سلول‌های سرطان پستان

*** نشان دهنده $P < 0.001$ در مقایسه با کنترل

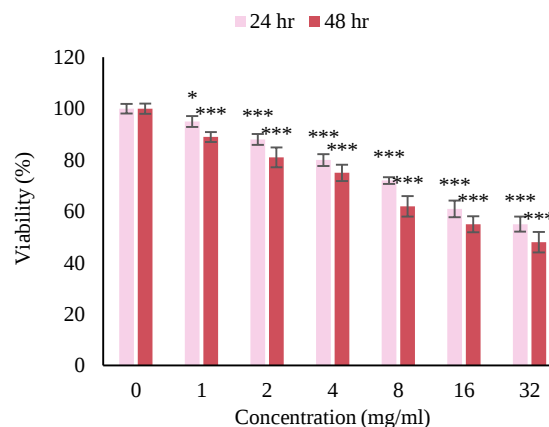
بررسی اثرات سوپرناتانت و لیز سلولی کفیر بر قابلیت مهاجرت سلول‌های T98 بعد از ۲۴ ساعت با آزمون خراش در شکل ۳-۵ A و B نشان داده شده است. بعد از ۲۴ ساعت تیمار در غلظت IC_{50}

بررسی اثرات غلظت‌های مختلف سوپرناتانت و لیز سلولی کفیر بر قابلیت زنده ماندن سلول‌های T98 بعد از ۲۴، ۴۸ ساعت با آزمون MTT در شکل ۳-۲ A و B نشان داده شده است. بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار با سوپرناتانت در غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر کاهش معنادار و وابسته به غلظت و زمان در زنده ماندن مشاهده شد ($P < 0.05$) میزان IC_{50} محاسبه شده برای ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب ۳۰/۲۴ و ۱۰/۵۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بود. بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار با لیز سلولی در غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر کاهش معنادار و به صورت وابسته به غلظت و زمان در زنده ماندن مشاهده شد ($P < 0.05$) میزان IC_{50} محاسبه شده برای ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب ۵۳/۸۲ و ۲۳/۱۶ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بود.

A



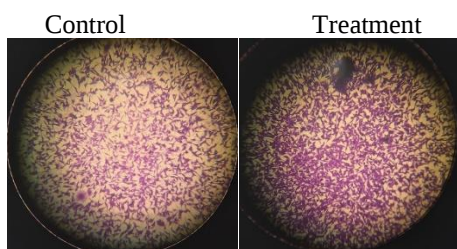
B



شکل ۳-۲- اثر (A) سوپرناتانت و (B) لیز سلولی کفیر بر زنده ماندن سلول‌های سرطان گلیوبلاستوم

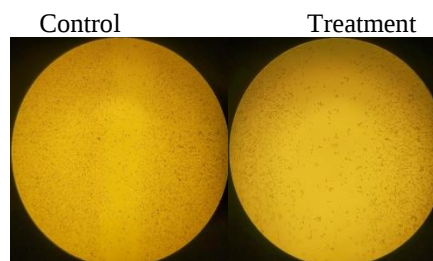
* نشان دهنده $P < 0.05$ ، ** نشان دهنده $P < 0.01$ و *** نشان دهنده $P < 0.001$ در مقایسه با کنترل

A

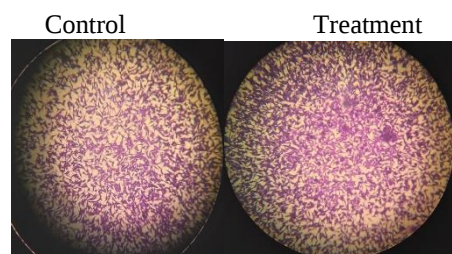


کاهش معنادار در مهاجرت مشاهده شد ($P < 0.05$). نمودار میله‌ای درصد بسته شدن خراش در شکل ۳-۶ نشان داده شده است.

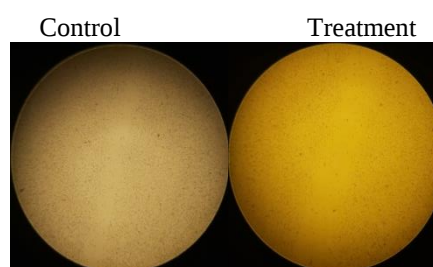
A



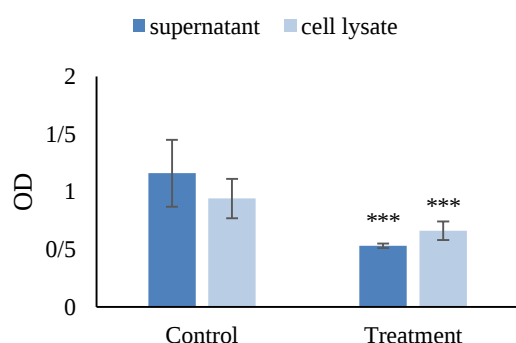
B



B

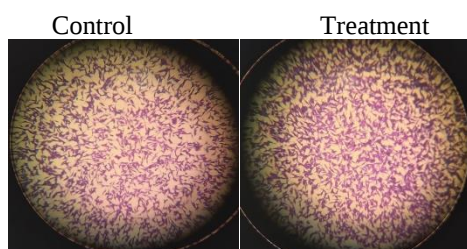


شکل ۳-۷ اثر (A) سوپرناتانت و (B) لیز سلولی کفیر بر توانایی تهاجم سلول‌های سرطان پستان

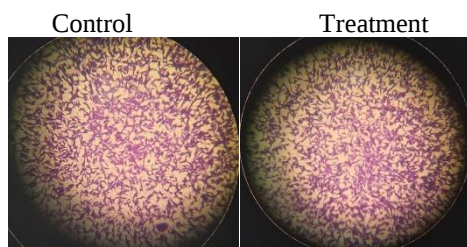


شکل ۳-۸ اثر سوپرناتانت و لیز سلولی کفیر بر تهاجم سلول‌های سرطان پستان
*** نشان‌دهنده $P < 0.001$ در مقایسه با کنترل

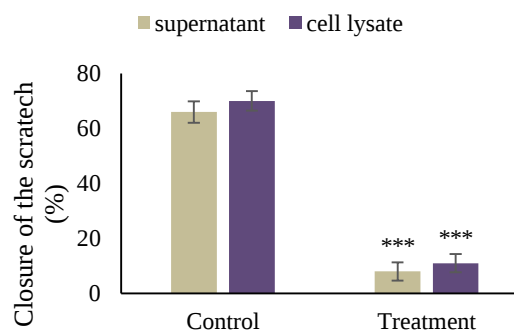
A



B



شکل ۳-۵ اثر (A) سوپرناتانت و (B) لیز سلولی کفیر بر توانایی مهاجرت سلول‌های سرطان کلیوبلاستوم

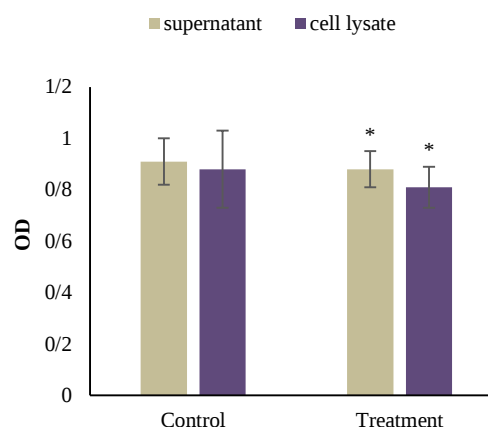


شکل ۳-۶ اثر سوپرناتانت و لیز سلولی کفیر بر مهاجرت سلول‌های سرطان کلیوبلاستوم
*** نشان‌دهنده $P < 0.001$ در مقایسه با کنترل

بررسی اثرات سوپرناتانت و لیز سلولی کفیر بر قابلیت تهاجم سلول‌های MDA-MB-231 بعد از ۲۴ ساعت با آزمون مهاجرت در شکل ۳-۷ A و B نشان داده شده است. بعد از ۲۴ ساعت تیمار با در غلظت IC50 کاهش معنادار در تهاجم مشاهده شد ($P < 0.05$). نمودار میله‌ای میزان جذب در شکل ۳-۸ نشان داده شده است.

بررسی اثرات سوپرناتانت و لیز سلولی کفیر بر قابلیت تهاجم سلول‌های T98 بعد از ۲۴ ساعت با آزمون مهاجرت در شکل ۳-۹ A و B نشان داده شده است. بعد از ۲۴ ساعت تیمار با در غلظت IC50 کاهش معنادار در تهاجم مشاهده شد ($P < 0.05$). نمودار میله‌ای میزان جذب در شکل ۳-۱۰ نشان داده شده است.

شکل ۹-۳- اثر (A) سوپرناتانت و (B) لیز سلولی کفیر بر توانایی تهاجم سلول‌های سرطان گلیوبلاستوم



شکل ۱۰-۳- اثر سوپرناتانت و لیز سلولی کفیر بر تهاجم سلول‌های سرطان گلیوبلاستوم
* نشان‌دهنده $P < 0.05$ در مقایسه با کنترل

بحث

در مطالعه حاضر بیان ژن‌های Pin1 و β -catenin و متابولیت‌های میکروبی نقش اساسی و غیرقابل انکاری در درمان بیماری‌ها از جمله سرطان دارند. امروزه روش‌های درمانی جدید زیادی برای درمان سرطان در دست بررسی است. نوشیدنی سنتی کفیر یکی از نوشیدنی‌های پروبیوتیک رایج در صنعت لبنیات در جهان است. این نوشیدنی پروبیوتیک در سال‌های اخیر به‌عنوان گزینه‌ای برای درمان بسیاری از بیماری‌ها توجه محققان را به خود جلب کرده است. برخی از خواص کفیر مانند ترمیم زخم مصرف ضد میکروبی، تقویت سیستم گوارشی، تنظیم جذب کلسترول و اثرات ضد توموری و ضد متاستاتیک روی رده‌های سلولی مختلف سرطانی، تنها بخشی از خواص درمانی این ماده غذایی پروبیوتیک است (۲۴). پروبیوتیک‌ها و متابولیت‌های تولید شده از جمله اسیدهای آلی، باکتریوسین‌ها و پپتیدها می‌توانند در مسیرهای متابولیتی مانند تنظیم تکثیر، تمایز سلولی، آپوپتوز، متاستاز و رگ‌زایی دخالت کنند (۲۵). سوپرناتانت باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی خاصیت ضد سرطانی خود را بر روی رده‌های سلولی سرطانی AGS MCS-7 SW620 و HT-29 با القای مسیر آپوپتوز وابسته به کاسپاز-۳ و کاهش بیان Bcl2 نشان دادند. مخمر ساکارومایسس سرویزیه همچنین اثرات ضد توموری و مهار رشد قابل توجهی را در سلول‌های سرطانی HepG2 و سرطان سینه نشان داده است. کفیر نیز یک ماده غذایی شامل مجموعه‌ای از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک است که اکثر این پروبیوتیک‌ها باکتری‌های اسید لاکتیک هستند (۲۶).

نتایج مطالعه ما نشان داد که سوپرناتانت بدون سلول‌های کفیر به‌طور قابل توجهی تکثیر سلولی در رده سلولی گلیوبلاستوم و پستان را به‌صورت وابسته به دوز مهار می‌کند. تیمار رده سلولی سرطان خون (اریترولوکمی حاد) با سوپرناتانت کفیر بدون سلول، القای آپوپتوز و نکروز و همچنین کاهش تکثیر رده سلولی سرطان اریترولوکمی را نشان داد (۲۶). با وجود تفاوت در نوع سالول سرطانی بررسی شده، نتایج این مطالعه همسو با مطالعه حاضر می‌باشد. یک موش آلوده به رده سلولی سرطان سینه T14 با رژیم غذایی نوشیدنی کفیر در طول ۲۸ روز کاهش قابل توجهی در وزن و اندازه تومورها و افزایش تولید سلول‌های T helper و سیتوتوکسیک همراه با اثر ضد متاستاتیک کفیر بر تومورها را نشان داد (۲۷). نتایج این مطالعه *in vivo* تأییدکننده مطالعه *in vitro* ما می‌باشد.

کفیر باعث کاهش بیان ژن TGF- α در رده HuT-102 سلول‌های سرطانی لنفوسیت (HTLV-1-positive malignant T-lymphocyte) و در نتیجه کاهش ۹۸ درصدی تکثیر سلولی در تیمار با ۶۰ mg/ml در طی ۲۴ ساعت می‌شود (۲۷). نتایج این مطالعه ممکن است بتواند مکانیزم اثر ضد تکثیری مشاهده شده در مطالعه ما را توضیح دهد.

مطالعه قبلی همچنین نشان داد که تیمار سلول‌های سرطانی معده (رده SGC 7901) با کفیر باعث کاهش وابسته به دوز در تکثیر سلولی شد (۲۸). نتایج این مطالعه نیز همسو با مطالعه حاضر می‌باشد.

علاوه بر این، در مطالعات دیگری نشان داده شده است که تیمار رده‌های سلولی سرطان خون KG-1، Caco-2 و HT-29 روده با کفیر بدون سلول باعث کاهش تکثیر رده سلولی سرطان می‌شود (۲۹). که نتایج این مطالعات نیز تأییدکننده نتایج مطالعه حاضر می‌باشند.

فراتر از مطالعات آزمایشگاهی، رابطه معکوس بین مصرف کفیر و لبنیات تخمیری (حاوی پروبیوتیک‌های زنده) و بروز سرطان نیز تأیید شده است (۳۰). کفیر با توجه به خواص این نوشیدنی می‌تواند مورد توجه صنایع غذایی به ویژه لبنیات برای تولید این محصول ارزشمند باشد.

نتایج مطالعه ما همچنین پتانسیل ضد متاستازی میکروارگانیسم‌های کفیر را نشان داد. قبلاً نیز سلول‌های سرطانی T14 با سوپرناتانت کفیر در شرایط آزمایشگاهی برای ارزیابی اثرات ضد مهاجرت و ضد تهاجم آن تیمار شدند. به موش‌های BALB/c نیز سلول‌های سرطانی T14 تزریق شد و به مدت ۲۸ روز با کفیر به‌صورت خوراکی تحت درمان قرار گرفتند (۳۱). نتایج این مطالعه نیز همسو با مطالعه ما پتانسیل ضد متاستازی کفیر را تأیید کرد.

همچنین نقش کفیر به‌عنوان یک عامل ضد رگ‌زایی در سرطان سینه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج یک مطالعه نشان داد که کفیر سطح

2. Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, Campbell NA. Campbell Biology, 9th edn, San Francisco, California, USA, Benjamin Cummings, 2012; p:1464.
3. van Lier EA, van Kranen HJ, van Vliet JA, Rahamat-Langendoen JC. Estimated number of new cancer cases attributable to infection in the Netherlands in 2003. *Cancer Lett.* 2008 Dec 18;272(2):226-31. doi: 10.1016/j.canlet.2008.07.007
4. Wicki A, Hagmann J. Diet and cancer. *Swiss Med Wkly* 2011;141:w13250. doi: 10.4414/smw.2011.13250
5. Kosha A, Farahbakhsh M, Hakimi S, Abdollahi L, Golzari M, Seif M. Epidemiology of cancer in west Azarbaijan in 2007. *Med J Tabriz Univ Med Sci* 2010;32:74-9. [Persian].
6. Shahneh FZ, Valiyari S, Azadmehr A, Hajiaghaee R, Yaripour S, Bandehagh A, Baradaran B. Inhibition of Growth and Induction of Apoptosis in Fibrosarcoma Cell Lines by *Echinophora platyloba* DC: In Vitro Analysis. *Adv Pharmacol Sci* 2013;2013:512931. doi: 10.1155/2013/512931
7. Mehta RG, Murillo G, Naithani R, Peng X. Cancer chemoprevention by natural products: how far have we come? *Pharm Res* 2010;27:950-61. doi: 10.1007/s11095-010-0085-y
8. Taraphdar AK, Roy M, Bhattacharya RK. Natural products as inducers of apoptosis: implication for cancer therapy and prevention. *Current Science* 2001;80:1387-96.
9. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015;65:87-108. doi: 10.3322/caac.21262
10. Weigelt B, Peterse JL, van 't Veer LJ. Breast cancer metastasis: markers and models. *Nat Rev Cancer* 2005;5:591-602. doi: 10.1038/nrc1670
11. WHO: Fact Sheet No. 297 (Updated 25 February 2015).
12. Chang M. Tamoxifen resistance in breast cancer. *Biomol Ther (Seoul)* 2012;20:256-67. doi: 10.4062/biomolther.2012.20.3.256
13. Maher EA, Furnari FB, Bachoo RM, Rowitch DH, Louis DN, Caveness WK, DePinho RA. Malignant glioma: genetics and biology of a grave matter. *Genes Dev* 2001;15:1311-33. doi: 10.1101/gad.891601
14. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 2016;66:7-30. doi: 10.3322/caac.21332
15. Goodenberger ML, Jenkins RB. Genetics of adult glioma. *Cancer Genet* 2012;205:613-21. doi: 10.1016/j.cancergen.2012.10.009
16. Omuro A, DeAngelis LM. Glioblastoma and other malignant gliomas: a clinical review. *JAMA* 2013;310:1842-50. doi: 10.1001/jama.2013.280319
17. Dietrich J, Imitola J, Kesari S. Mechanisms of Disease: the role of stem cells in the biology and treatment of gliomas. *Nat Clin Pract Oncol* 2008;5:393-404. doi: 10.1038/ncponc1132
18. Oberoi RK, Parrish KE, Sio TT, Mittapalli RK, Elmquist WF, Sarkaria JN. Strategies to improve delivery of anticancer drugs across the blood-brain barrier to treat glioblastoma. *Neuro Oncol* 2016;18:27-36. doi: 10.1093/neuonc/nov164
19. Rizk S, Maalouf K, Baydoun E. The antiproliferative effect of kefir cell-free fraction on HuT-102 malignant T lymphocytes. *Clin Lymphoma Myeloma* 2009;9:012.
20. Fatahi A, Soleimani N. Evaluation of cytotoxicity activity of cell extracts of kefir microorganisms on glioblastoma cancer cells. *Studies in Medical Sciences* 2018;29:12-19.
21. Malekara E, Pazhouhi M, Rashidi I, Jalili C. Anti-proliferative and cytotoxic effect of Iranian snake (*Vipera raddei kurdistanica*) venom on human breast cancer cells via reactive oxygen species-mediated apoptosis. *Res Pharm Sci* 2020;15:76-86. doi: 10.4103/1735-5362.278717
22. Pazhouhi M, Sariri R, Rabzia A, Khazaei M. Thymoquinone synergistically potentiates temozolomide cytotoxicity through the inhibition of autophagy in U87MG cell line. *Iran J Basic Med Sci*;19:890-8.

فاکتورهای رگ‌زایی IL-1 β و سیتوکین IL-10 را مهار می‌کند (۳۱). این نتایج می‌تواند مکانیزم مهار متاستاز توسط کفیر را توضیح دهد.

اگرچه کفیر در برخی مطالعات ضدسرطان شناخته شده است، اما مکانیسم عمل در پشت ادعای ضدسرطان و ضد متاستاز کفیر هنوز کمتر مورد بررسی قرار می‌گیرد. بنابراین، این مطالعه به منظور بررسی بیشتر پتانسیل ضد متاستاز و ضد سرطان کفیر در سلول‌های سرطانی انجام شد. بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار با سوپرناتانت و لیز سلولی کاهش معنادار و به صورت وابسته به غلظت و زمان در زنده‌مانی سلول‌های سرطان پستان و گلیوبلاستوم مشاهده شد. سوپرناتانت و لیز سلولی کفیر از طریق کاهش پتانسیل مهاجرت و تهاجم سلول‌های سرطانی اثرات ضد متاستاز خود را نشان دادند. در نتیجه کفیر می‌تواند گزینه‌ای برای درمان سرطان باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله نهایت تشکر و قدردانی خود را از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه اعلام می‌دارند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

مشارکت نویسندگان

فوزیه خانی همت آبادی: طراحی آزمایش‌ها و نظارت بر تحقیق. ایرج رشیدی: تجزیه و تحلیل داده‌ها. مونا پژوهی: انجام آزمایشات کشت سلولی. محمد رضا غلامی: نوشتن مقاله. فاطمه ارغوانی: ویرایش مقاله. همه نویسندگان نسخه نهایی را خوانده و تأیید کردند.

حمایت مالی

دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه حامی مالی این مقاله می‌باشد.

ملاحظات اخلاقی

پژوهش فوق حاصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه با کد ۴۰۲۰۱۸۵ است که در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه انجام گرفته است. کد اخلاق طرح IR.KUMS.MED.REC.1402.025 می‌باشد.

کد اخلاق

این پژوهش دارای کد اخلاق IR.KUMS.MED.REC.1402.025 است.

References

1. Bansal P, Gupta V, Bansal R, Sapra R. Dietary phytochemicals in cell cycle arrest and apoptosis an insight. *J Drug Deliv Ther* 2012;2: 8-18.

23. Pazhouhi M, Sariri R, Khazaei MR, Moradi MT, Khazaei M. Synergistic effect of temozolomide and thymoquinone on human glioblastoma multiforme cell line (U87MG). *J Cancer Res Ther* 2018;14:1023-8. doi: [10.4103/0973-1482.187241](https://doi.org/10.4103/0973-1482.187241)
24. Rafie N, Golpour Hamedani S, Ghiasvand R, Miraghajani M. Kefir and Cancer: A Systematic Review of Literatures. *Arch Iran Med* 2015;18:852-7.
25. Mellick AS, Plummer PN, Nolan DJ, Gao D, Bambino K, Hahn M, Catena R, Turner V, McDonnell K, Benezra R, Brink R, Swarbrick A, Mittal V. Using the transcription factor inhibitor of DNA binding 1 to selectively target endothelial progenitor cells offers novel strategies to inhibit tumor angiogenesis and growth. *Cancer Res* 2010;70:7273-82. doi: [10.1158/0008-5472.CAN-10-1142](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1142)
26. Jalali F, Sharifi M, Salehi R. Kefir induces apoptosis and inhibits cell proliferation in human acute erythroleukemia. *Med Oncol* 2016;33:7. doi: [10.1007/s12032-015-0722-8](https://doi.org/10.1007/s12032-015-0722-8)
27. Rizk S, Maalouf K, Baydoun E. The antiproliferative effect of kefir cell-free fraction on HuT-102 malignant T lymphocytes. *Clin Lymphoma Myeloma* 2009;9:S198-203. doi: [10.3816/CLM.2009.s.012](https://doi.org/10.3816/CLM.2009.s.012)
28. Gao J, Gu F, Ruan H, Chen O, He J, He G. Induction of apoptosis of gastric cancer cells SGC7901 in vitro by a cell-free fraction of Tibetan kefir. *International Dairy Journal* 2013;30:14-8.
29. Khoury N, El-Hayek S, Tarras O, El-Sabban M, El-Sibai M, Rizk S. Kefir exhibits anti-proliferative and pro-apoptotic effects on colon adenocarcinoma cells with no significant effects on cell migration and invasion. *Int J Oncol* 2014;45:2117-27. doi: [10.3892/ijo.2014.2635](https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2635)
30. Rosa DD, Dias MMS, Grzeškowiak ŁM, Reis SA, Conceição LL, Peluzio MDCG. Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. *Nutr Res Rev* 2017;30:82-96. doi: [10.1017/S0954422416000275](https://doi.org/10.1017/S0954422416000275)
31. Zamberi NR, Abu N, Mohamed NE, Nordin N, Keong YS, Beh BK, Zakaria ZA, Nik Abdul Rahman NM, Alitheen NB. The Antimetastatic and Antiangiogenesis Effects of Kefir Water on Murine Breast Cancer Cells. *Integr Cancer Ther* 2016;15:NP53-66. doi: [10.1177/1534735416642862](https://doi.org/10.1177/1534735416642862)





The Effect of Cell Extract of Kefir Microorganisms on the Metastatic Potential of Breast and Glioblastoma Cancer Cell Lines

Mohammad Reza Gholami (Ph.D.)¹, Mona Pazhouhi (Ph.D.)¹, Iraj Rashidi (Ph.D.)¹, Fuzieh Khani-Hematabadi (Ph.D.)^{1*}, Fatemeh Arghavani (M.D.)²

1- Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

2- Student Research Committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

Received: 23 February 2025, Accepted: 7 June 2025

Abstract:

Introduction: Kefir-forming microorganisms can be effective in the prevention and treatment of various types of cancer. The present study aims to investigate the effect of kefir microorganism cell extract on the metastatic potential of breast cancer and glioblastoma cell lines.

Methods: Following cell proliferation, MDA-MB-231 and T98G cell lines were treated with appropriate concentrations of kefir microorganism cell extract, and cell viability was assessed by MTT assay. Subsequently, the extract's effect on cell migration and invasion capabilities was analyzed.

Results: After 24 hours of treatment with supernatant and cell lysis, a concentration- and time-dependent decrease in cell viability was observed. The IC₅₀ values for 24 and 48 hours were 73.85 and 66.13 mg/ml for supernatant and 102.39 and 75.88 mg/ml for cell lysis for the MDA-MB-231 cell line, respectively. Also, the calculated IC₅₀ for 24 and 48 hours was 24.30 and 10.55 mg/ml for supernatant and 82.53 and 16.23 mg/ml for cell lysate for the T98G cell line, respectively. Moreover, after 24 hours of treatment with IC₅₀ concentrations of supernatant and cell lysate, a significant decrease in the migration and invasion potential of cells was observed ($P < 0.05$).

Conclusion: The results showed that kefir significantly reduced the growth rate and metastasis of glioblastoma and breast cancer cells. As a result, kefir can be an option for cancer treatment.

Keywords: Metastasis, Breast cancer, Glioblastoma.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: F. Khani-Hematabadi, Email: fuziekhani@yahoo.com

Citation: Gholami M.R, Pazhouhi M, Rashidi I, Khani-Hematabadi F, Arghavani F. The effect of cell extract of kefir microorganisms on the metastatic potential of breast and glioblastoma cancer cell lines. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2025;20(2):25-33.

