

تأثیر استرول‌های استخراج شده از جلبک قرمز خلیج فارس بر کلاژن سلول‌های پوست انسان

فاطمه پیشه‌ورزاد^۱، سید ولی حسینی^{۲*}، حمید فرحمند^۳، ماریانو لاسترا^۴، سونیا لویز^۵

۱. دانش آموخته دکتری گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۳. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۴. مرکز علوم دریایی تورایا، جزیره تورایا، ویگو، اسپانیا.

۵. گروه ژنتیک، بیوشیمی و ایمنولوژی، دانشگاه ویگو، ویگو، اسپانیا.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۱۷ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۹/۳۰

چکیده

پیری پوست با افزایش تنظیم بیان ماتریکس متالوپروتئیناز (MMP) و کاهش تنظیم سنتز کلاژن همراه است. استرول‌های استخراج شده از جلبک‌های دریایی، به‌عنوان مواد ضدسرطان و ضدکسیدان گزارش شده‌اند که این خواص می‌تواند نشان از پتانسیل مناسبی جهت خواص ضدچروک در پوست انسان باشد. در این تحقیق، جهت بررسی سنتز پروکلاژن در سلول‌های پوست انسان، استرول‌های استخراج شده از جلبک قرمز خلیج فارس *Gracilaria salicornia* در غلظت‌های ۱/۷، ۳/۵، ۷، ۱۴، ۲۸، ۵۶ و ۱۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر مورد سنجش قرار گرفت، همچنین برای تعیین دز قابل استفاده از این پیش‌ماده دارویی، تست سمیت سلولی بر رده فیبروبلاست پوست انسان در غلظت‌های ۲/۳، ۴/۶، ۹/۳، ۱۸، ۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره استرولی جلبک گراسیلاریا سالیکورنیا آزمایش شد. نتایج حاکی از افزایش سنتز پروکلاژن در سلول‌های پوست با افزایش غلظت استرول‌ها و نیز عدم سمیت این ماده در دزهای مورد نیاز درمانی بوده است. IC₅₀ عصاره‌ها برای سلول‌های فیبروبلاست پوست انسان غلظت ۱۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر را نشان داد، همچنین اثرگذاری عصاره‌ها در افزایش کلاژن پوست با سطح معنی‌داری در غلظت‌های ۱/۷۵ تا ۱۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر قابل مشاهده بود ($P < 0.001$). بنابراین استرول‌های استخراج شده بدلیل تأثیر بر سنتز پروکلاژن سلول‌های پوست، می‌توانند نقش موثری بر کاهش فرایند پیری پوست بازی کنند. تحقیقات بیشتری برای سایر کاربردهای ترکیبات استرولی جلبک‌ها در جهت استفاده از محصولات آرایشی-بهداشتی مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: پروکلاژن، سمیت سلولی، استرول، جلبک قرمز خلیج فارس، ترمیم پوستی، *Gracilaria salicornia*.

۱. مقدمه

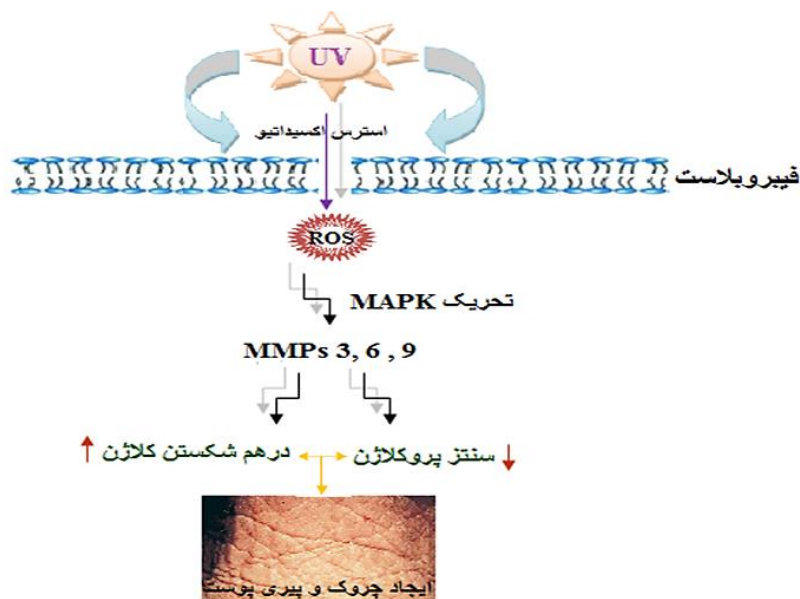
نظير ضدسرطان (Khanavi et al., 2012)، کاهش کلسترول (Tapiero et al., 2003) و فعاليتهاي ضدديابت (Lee et al., 2004) را از خود نشان داده‌اند. فيتواسترول مي‌تواند فعال‌سازي آنزيم در کراتينوسيت‌ها را تنظيم نموده و همچنين، بتا-سیتوسترول‌ها که از انواع استرول‌های گیاهی هستند، می‌توانند برای جلوگیری از پیری استفاده شوند. فوکسترول‌ها نیز دارای فعاليتهاي ضداکسیدکننده در بدن می‌باشند (Lee et al., 2003).

گیاهان داروئي فعاليت بازدارندگي کلاژناز و الاستاز را انجام می‌دهند، که رشته‌های الاستين و کلاژن را تقويت می‌کند، و نیز اثرات آنتی‌اکسیدانی ناشی از این گیاهان می‌تواند نقش حائز اهميتی را در به تعویق انداختن فرایند پیری پوست بازی کند و پتانسیل خوبی در جهت پیشبرد اهداف آرایشی-بهداشتی داشته باشد. جلبک‌ها از منابع عظیمی از گیاهان دریایی به حساب می‌آیند. امروزه این موجودات به دلیل داشتن ترکیبات متعدد و کاربردی که دارای اثراتی همچون اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد-ویروسی، سیتوتوکسیک و ... می‌باشند، توجه بسیاری از محققان و صاحبان صنایع داروئي، درمانی و آرایشی-بهداشتی را به خود جلب کرده‌اند. از جمله ترکیباتی که جلبک‌ها را منبع خوبی برای تحقیقات گسترده نموده‌است، کاروتنوئیدها، فنل آزاد و همچنین اسید چرب با ساختار شیمیایی خاص می‌باشد که جاذب رادیکال‌های آزاد بوده و می‌توانند اکسیژن تکی را دفع کنند و خاصیت آنتی‌اکسیدانی و سیتوتوکسیسیته را بروز دهند (Gibbs et al., 2002; Raja et al., 2007; Kohen and Nyska, 2002; Poppel and Goldbohm, 1995).

به‌طور خلاصه، از آن‌جایی که استرول‌ها اجزای ضروری غشای سلولی هستند، و با در نظر گرفتن نتایج پژوهش‌های محققین، می‌توانیم به این فرضیه برسیم که استرول‌های جلبکی قابلیت محافظت از فیبروبلاست‌های طبیعی پوست انسان در برابر تنش-های اکسیداتیو را دارا می‌باشند. بنابراین در این تحقیق، تاثیر ترکیبات استرولی حاصل از جلبک گراسیلاریا سالیکورنیا بر میزان تولید پروکلاژن سلول-های فیبروبلاست پوست انسان و نیز خواص سمیت سلولی این ترکیبات بر رده‌ی سلولی مذکور را مورد

پیری پوست باعث ایجاد چروک و از بین رفتن رنگدانه‌ها می‌گردد (Kim et al., 2008). همان‌طور که پوست دچار پیری می‌شود، لایه درمیس پوست، الاستین و کلاژن خود را از دست می‌دهد و در نتیجه الاستیسیته‌ی پوست از بین رفته و منجر به ایجاد چروک می‌گردد. چروک‌های پوستی به‌صورت طبیعی به گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species (ROS)) نسبت داده می‌شوند که به‌وسیله استرس‌های اکسیداتیو ایجاد می‌شود. چنانچه در شکل ۱ نیز آورده شده است، ROS، میتوزن-کینازهای پروتئینی فعال شده (Mitogen-activated protein kinase) که رونویسی فاکتور فعال‌کننده‌ی پروتئین ۱ را فسفریلید می‌کند، تحریک می‌نماید. MAPK خود تنظیم‌کنندگی ماتریکس متالوپروتئیناز (MMPs) که در کاهش کلاژن پوست شرکت دارد را برعهده داشته و در نهایت موجب پیری پوست می‌گردد (Fisher et al., 1996; Rittié and Fisher 2002). MMPها اندوپروتئینازهای وابسته به روی هستند و باعث تخریب کلاژن‌ها در ماتریکس خارج سلولی می‌شوند که حمایت ساختاری از پوست را فراهم می‌آورد. به‌طور خاص، MMP-1، پروکلاژن نوع I را کاهش می‌دهد (Fisher et al., 2001). از این‌رو، زمانی که پوست در برابر اشعه ماوراء بنفش قرار گرفته و MMPها تحریک می‌شوند، سنتز پروکلاژن نوع I سرکوب می‌شود (Fisher et al., 2000). بنابراین، عوامل مؤثر بر کاهش تولید MMP-1 و ترویج سنتز پروکلاژن نوع I ممکن است برای جلوگیری و درمان پوست‌های آسیب دیده با اشعه‌های شدید آفتاب مفید باشد (Wang et al., 2014).

یکی از راه‌های جلوگیری از پیری پوست و چروک-ها، منابع فيتواسترول طبیعی می‌باشند. عصاره‌های گیاهی غنی از ترکیبات شیمیایی گیاهی همانند فلاونوئیدها، فنولیک اسیدها، توکوفرول‌ها، آلکالوئیدها و مونوترپن‌ها دارای فعاليتهاي آنتی‌اکسیدانی بوده و به صورت گسترده در محصولات آرایشی-بهداشتی ضد چروک بکار می‌روند (Verschooten et al., 2006). فيتواسترول‌های جدا شده از جلبک‌های قهوه‌ای *Hizikia fusiformis* فعاليتهاي زیستی مختلفی



شکل ۱- مسیر تاثیر ROS بر فیبروبلاست پوست و ایجاد چروک‌های پوستی.

این مرحله شامل ساپونیفیکیشن نمونه‌ها و استخراج بخش غیرقابل ساپونیفیکیت می‌باشد. پس از حلال‌پرانی، ۵ میلی‌گرم از عصاره‌ی استونی بدست آمده، در ۵۰۰ میکرولیتر از متانول حل شده و سپس ۵۰۰ میکرولیتر هیدروکسید پتاسیم به محلول اضافه گردید. محلول به مدت یک ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بخش غیرقابل ساپونیفیکیت دو بار با اضافه نمودن ۵۰۰ میکرولیتر از هگزان عصاره-گیری شد. عصاره‌گیری به کمک سانتریفیوژ کردن محلول بعد از افزودن هگزان و جدا کردن لایه‌ی بالایی انجام شد. حلال‌ها با استفاده از گاز نیتروژن تبخیر شد (Lu et al., 2007).

۴.۲. عصاره‌گیری فاز جامد (Solid Phase Extraction (SPE)

در مرحله‌ی اول، کارتریج سیلیکا (Milford, USA) جهت بالا بردن قدرت باند شدن با ترکیبات استرولی، با ۵ میلی‌لیتر هگزان شسته شد. عصاره بدست آمده از مرحله‌ی قبل، در ۱ میلی‌لیتر از حلال هگزان- اتیل استات (۹۵:۵، v/v) حل شد. سپس فرکشن استرول با ۵ میلی‌لیتر از مخلوط هگزان-اتیل استات (۶۰:۴۰، v/v) شسته شده و در پایان جهت بدست آوردن عصاره‌ی خشک، حلال‌ها با گاز نیتروژن تبخیر گشتند (Lu et al., 2007).

بررسی قرار می‌دهیم.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه نمونه

جلبک قرمز (*Gracilaria salicornia* C. Award Dawson) از منطقه جزر و مدی جزیره قشم جمع‌آوری شده و درون بسته‌های پلاستیکی به آزمایشگاه دانشگاه بین‌الملل قشم انتقال داده شد. نمونه‌ها ابتدا با آب شیرین شسته شده و کاملاً نمک-زدایی گشتند. پس از خشک‌شدن ابتدایی جلبک‌ها در دمای اتاق، به دور از نور خورشید و آلودگی، به وسیله‌ی دستگاه فریز-درایر (Lyolpha، مدل ۵۰-۶) لیوفیلیزه گشته و سپس پودر شدند.

۲.۲. عصاره‌گیری

استرول‌ها از بافت جلبکی به وسیله‌ی حلال استون عصاره‌گیری شدند. ۱۰ گرم از جلبک خشک و پودر شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر از استون در دمای اتاق (۲۵°C) درون ارلن و به دور از نور خورشید خیسانده شده و پس از ۷۲ ساعت توسط دستگاه روتاری (Buchli B-491، ساخت کشور سوئیس) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد حلال‌پرانی شد.

۳.۲. ساپونیفیکیشن

۵.۲. کشت سلول

رده سلولی فیبروبلاست پوست انسان (Human Dermal Fibroblast (HDF)) از مجموعه‌ی کشت آمریکا تهیه شد. ابتدا سلول‌ها در شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۵ درصد CO₂ در محیط کشت، که محیط کشت مخصوص سلول‌های HDF می‌باشد، کشت داده شدند. سلول‌ها پس از پاساژ دادن در میکروپلیت ۹۶ خانه با تراکم ۱۰^۴ * ۱ سلول در هر خانه کاشته شده و به مدت ۲۴ ساعت جهت چسبیدن به کف پلیت انکوبه گشتند. پس از این زمان، استرول‌های جلبکی با غلظت‌های ۲/۳، ۴/۶، ۹/۳، ۱۸، ۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، برای تست سمیت سلولی و با غلظت‌های ۱/۷، ۳/۵، ۷، ۱۴، ۲۸، ۵۶ و ۱۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر جهت تست پروکلاژن، به هر خانه اضافه شده و به مدت ۷۲ ساعت درون انکوباتور باقی ماندند. در ادامه پس از کشت سلول‌ها، ابتدا تست سمیت سلولی و بعد از مشخص شدن IC₅₀ عصاره‌ها، تست پروکلاژن روی این سلول‌ها مورد آزمایش قرار گرفت.

۶.۲. سازگاری نسجی ترکیبات استروئید

فیبروبلاست‌های تهیه شده از انستیتو آمریکا، در محیط کشت (DMEM (Dulbecco's modified of Eagle medium) کشت داده می‌شوند. ترکیبات استخراج شده برای تست سمیت سلولی آزمایشگاهی کوتاه مدت براساس استاندارد ISO 10993-12 آماده خواهد شد. برای این منظور، هر ترکیب به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در ۱ میلی‌لیتر محیط کشت کامل انکوبه می‌گردد.

محیط عصاره‌های جمع‌آوری شده به کشت فیبروبلاست پوست انسان که به صورت اولیه با تراکم ۱۰۰×۴ چاهک/سلول، در پلیت‌های ۹۶ خانه کشت داده می‌شوند، با غلظت‌های مختلف و به روش رقت-دهی، اضافه شده و به مدت ۲۴ ساعت باقی می‌ماند. تست رنگ بر اساس متیل تترازولیوم (Methyl Tetrazolium (MTT)) برای ارزیابی میزان حیات سلولی مورد استفاده قرار خواهد گرفت. فقط سلول‌های زنده قادر هستند MTT را به فرمازان کاهش بدهند، که قابل حل در (Sodium Dodecyl Sulfate) SDS

می‌باشد. اندازه‌گیری جذب فورمازان در طول موج ۵۷۰ نانومتر متناسب با تعداد سلول‌های زنده است (Rubis *et al.*, 2008). نتایج توسط میکروپلیت ریدر (Perkin Elmer، ساخت کشور آمریکا) با طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. بازماندگی سلول‌ها با فرمول زیر مورد محاسبه قرار گرفت.

بازماندگی سلول‌ها (%) = ۱۰۰ * میزان جذب کنترل منفی / میزان جذب تیمار
منحنی‌های پاسخ غلظت‌ها رسم شده و مقادیر IC₅₀ با نرم افزار Graph Pad Prism 7.3 مورد محاسبه قرار گرفت. هر آزمایش ۵ بار تکرار شد.

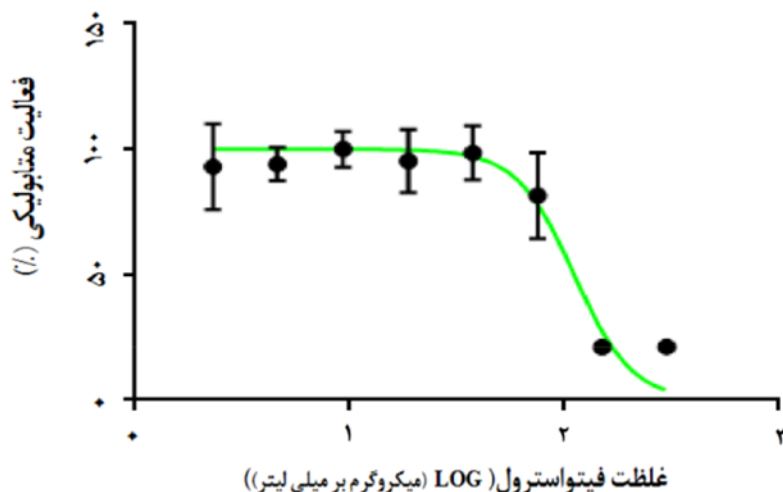
۷.۲. فعالیت سنتز کلاژن در فیبروبلاست

تست سنتز پروتئین پروکلاژن نوع ۱ براساس پروتکل تانایاما و همکارانش در سال ۱۹۹۲ با تغییراتی انجام شد. سوپرناتنت جمع‌آوری شده از تیمار ترکیبات استروئیدی با فیبروبلاست‌ها و همچنین نمونه‌های شاهد، که به مدت سه روز در دمای ۳۷ درجه با ۵ درصد گاز دی‌اکسیدکربن انکوبه شده بودند، براساس دستورالعمل تاکارا، MK101 با سه بار تکرار اندازه‌گیری شد. کنترل منفی به وسیله بافر و سوپسترا و بدون آنزیم در نظر گرفته شد.

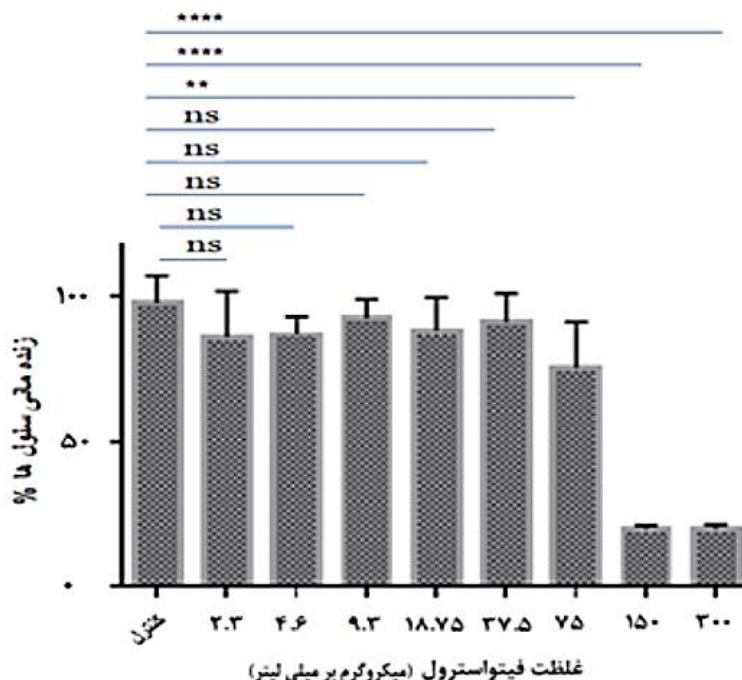
۳. نتایج

۱.۳. سازگاری نسجی استرول‌های استخراج شده

این بررسی با تست سمیت سلولی روی فیبروبلاست‌های پوست انسان مورد آزمایش قرار گرفت. غلظت‌های ۲/۳، ۴/۶، ۹/۳، ۱۸، ۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره استرولی جلبک گراسیلاریا سالیکورنیا مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که IC₅₀ فیتواسترول‌های حاصل از جلبک گراسیلاریا سالیکورنیا در غلظت ۱۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر روی سلول‌های پوست انسان، می‌باشد (شکل ۲) و بنابراین در غلظت‌های پایین‌تر فاقد سمیت بوده و جهت مصارف انسانی در محصولات آرایشی-بهداشتی قابل ارائه می‌باشند. نتایج با نرم افزار گراف پد ۷/۳ آنالیز شدند. شکل ۳ مربوط به نتایج حاصل از درصد زنده‌مانی سلول‌های فیبروبلاست تیمار



شکل ۲ - نمودار غلظت - پاسخ رده سلولی فیبروبلاست پوست انسان به فیتواسترول‌های حاصل از جلبک *G. salicornia*. (تیمارها با ۵ بار تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند).



شکل ۳ - نمودار درصد زنده‌مانی سلول‌های رده سلولی فیبروبلاست پوست انسان در مقابل فیتواسترول‌های حاصل از جلبک *G. salicornia* (ns = بدون اختلاف معنی‌دار، $P < 0.01$ و $P < 0.001$).

عصاره استونی جلبک گراسیلاریا سالیکورنیا اختلاف معنی‌داری را در افزایش سنتز پروتئین نوع ۱ پروکلاژن نشان داد. در غلظت ۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر این ترکیبات، افزایش ۴۴/۶ درصدی سنتز کلاژن نسبت به نمونه شاهد (فاقد ترکیبات فیتواسترولی) مشاهده شد. نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس حاکی از اختلاف معنی‌دار تمامی غلظت‌ها نسبت به نمونه‌ی شاهد بود که این موید اثربخشی عصاره‌ها از غلظت ۱/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر سنتز پیش‌ساز پروکلاژن

شده با فیتواسترول‌ها می‌باشد، همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، تا قبل از غلظت ۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری در درصد زنده‌مانی بین تیمارها و نمونه شاهد (فاقد فیتواسترول‌ها) وجود ندارد و این حاکی از غیرسمی بودن این ترکیبات در غلظت‌های پایین می‌باشد.

۲.۳. تست پروکلاژن

مجموعه‌ی ترکیبات فیتواسترولی حاصل از

پوست می‌باشد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

بررسی سنتز پروکلاژن نوع I برای ارزیابی مقدار این پروتئین در معرض عصاره‌های فیتواسترولی جلبک گراسیلاریا سالیکورنیا انجام شد. کلاژن‌ها به‌عنوان مولکول‌های پیشرو تولید می‌شوند، که پروکلاژن نامیده می‌شود. این مولکول‌ها حاوی توالی‌های پپتید اضافی در هر دو انتهای آمینو ترمینال و انتهای پایانه کربوکسی می‌باشند که پروپیتید نامیده می‌شود. این پروپیتیدها در طی ترشح آن از مولکول کلاژن سه گانه هیلکس جدا شده و پس از آن کلاژن‌های سه حلقه‌ای پلیمر به فیبریل‌های کلاژن خارج سلولی پلیمریزاسیون می‌شوند. بنابراین مقدار پروپیتید آزاد استوکیومتریک مقدار مولکول‌های کلاژن سنتز شده را نشان می‌دهد (Kim et al., 2008). عصاره‌ی استرولی جلبک قرمز خلیج فارس، گسترش کلاژن نوع I را به‌صورت وابسته به دوز افزایش داد، که با توجه به تست سمیت سلولی انجام شده، در غلظت‌های بسیار پایین تا غلظت‌های زیر ۱۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هم قابل استفاده بوده و تاثیرات بالایی بر افزایش سنتز کلاژن در سلول‌های پوست دارا می‌باشد. بنابراین می‌توان این جلبک را به‌عنوان منبع طبیعی استرول، جهت ساخت مواد آرایشی و بهداشتی مورد بهره‌برداری قرار داد. Saeidnia و همکاران (۲۰۰۹) اثرات ضدباکتریایی عصاره‌ی اتیل استاتی این جلبک را مورد سنجش قرار دادند و نتایج نشان داد که این جلبک در مقابل باکتری *Staphylococcus aureus* توانایی مقابله داشته و دارای خواص ضدباکتریایی نیز می‌باشد. استرول‌های استخراج شده از گراسیلاریا سالیکورنیا که از سواحل شمالی بندرعباس جمع‌آوری گشته بود، شامل 22-oleic acid, cholesterol, dehydrocholesterol و stigmasterol است که نشان‌دهنده‌ی غنی بودن این جلبک از پلی‌ساکاریدهای کلسترول می‌باشد (Nasiri et al., 2011). در مطالعه‌ای که Tabarsa و همکاران (۲۰۱۲) انجام دادند، از میان گونه‌های جلبک دریایی، *G. salicornia* دارای بیشترین میزان اسید چرب اشباع نشده (۳۶/۱۶٪) بود که تقریباً سه برابر بیشتر از *Ulva lactuca* (۱۱/۵٪) محاسبه شد. اسید اولئیک در این کلاس فاکتور مهمی بود. آنالیز

فیتوشیمیایی عصاره‌ی آبی به‌دست آمده از *G. salicornia* که اثرات ضدباکتری و ضدالتهاب را نیز از خود نشان داد، وجود استروئید، آلکالوئید، ساپونین، فنول، پروتئین، تانین، فلاونوئید، اسید آمینه و ترینوئیدها را مورد تایید قرار داد (Paramsivam et al., 2016). بررسی اثر ترکیبات فنولی دو گونه از جلبک گراسیلاریا که توسط Ghannadi و همکاران (۲۰۱۶) مورد مطالعه قرار گرفت، نشان‌دهنده‌ی وجود خواص سمیت سلولی بر رده‌ی سلول‌های سرطانی HT-29، HeLa و MCF-7 می‌باشد، همچنین در این تحقیق خواص آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات نیز به اثبات رسید. در گونه‌ی *G. corticata* ترکیبات تانین و در گونه‌ی *G. salicornia* تریترین‌ها و استرول‌ها فراوانی بیشتری را دارا بودند. همچنین عصاره هیدروالکلی این جلبک خواص آنتی‌اکسیدانی داشته و نیز با رده‌ی سلولی سرطان پستان MCF7 مقابله می‌نماید.

ژلاتینازها، که شامل MMP-2 و MMP-9 می‌باشد، موجب تخریب پوستی می‌گردد. گزارش‌ها نشان داده است که پوست‌های آسیب دیده با آفتاب به صورت معنی‌داری افزایش سطح ژلاتیناز فعال (MMP-2 و MMP-9) را نسبت به پوست‌هایی که به صورت طبیعی دچار پیری شده‌اند، دارا می‌باشد (Chung et al., 2001). مطالعات آزمایشگاهی عصاره‌ی متانولی جلبک دریایی *Corallina pilulifera* نشان داد که این عصاره توانایی ممانعت از استرس اکسیداتیو ناشی از UV و همچنین بیان MMP-2 و MMP-9 در فیبروبلاست‌های پوست انسان را دارا است. این مطلب به روشنی پیشنهاد دهنده‌ی نقش ترکیبات جلبکی در مهارکنندگی MMP می‌باشد (Bomi et al., 2009). از آن‌جا که این توانایی می‌تواند اهمیت زیادی در از بین بردن و یا به تاخیر انداختن پیری پوست که از عوارض آن ایجاد چروک‌های پوستی است، داشته باشد، بنابراین استفاده از این عصاره‌ها در تولید کرم‌های ضدچروک ارگانیک می‌تواند گامی موثر در جایگزینی مواد طبیعی با منشاء دریایی با ترکیبات شیمیایی باشد.

در تحقیق بالینی که کاربرد فیتواسترول‌ها به همراه ویتامین E بر پوست انسان را مورد بررسی قرار داده بود، نتایج نشان‌دهنده‌ی اثر مهارکنندگی این مواد بر بیان ژن‌های COL1A1 و COL1A2 بوده

ملیکا ناظمی (پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان) که در طی انجام این تحقیق مساعدت نمودند، کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. همچنین از آلبرتو آکونیا و کلیه متخصصین و تکنیسین‌های مرکز تحقیقات دانشگاه ویگوی اسپانیا که بی‌دریغ در این مسیر همراهی کردند، سپاسگزارم.

است، این ژن‌ها همچون MMP-2 و MMP-9 عمل نموده و در تخریب سلول‌های پوست اثرگذار می‌باشند.

۶. قدردانی

از مجتبی نادری (دانشگاه بین المللی قشم) و

References

- Bodner, C.C., Hymowitz, T., 2002. Ethnobotany of *Pueraria* species. W.M. Keung, editor *Pueraria: The genus Pueraria*. Taylor & Francis, New York, 29-58.
- Bomi, R., Zhong, Q., Kim, M.M., Nam, K.W., Kim, S.J., 2009. Anti- photoaging activity and inhibition of Matrix Metallo Proteinase (MMP) by marine red alga, *Corallina pilulifera* methanol extract. *Radiation Physics and Chemistry* 78(2), 98-105.
- Chung, J.H., Seo, J.Y., Choi, H.R., Lee, M.K., Youn, C.S., Rhie, G., Cho, K.H., Kim, K.H., Park, K.C., Eun, H.C., 2001. Modulation of skin collagen metabolism in aged and photoaged human skin in vivo. *Journal of Investigation Dermatology* 117, 1218-1224.
- Fisher, G.J., Choi, H.C., Bata, C. Z., Shao, Y., Datta, S., Wang, Z.Q., Kang, S., Voorhees, J.J., 2001. Ultraviolet irradiation increases matrix metalloproteinase- 8 protein in human skin in vivo. *Journal of Investingative Dermatology* 117, 219- 226.
- Fisher GJ, Datta S, Wang Z. 2000. C-Jun-dependent inhibition of cutaneous procollagen transcription following ultraviolet irradiation is reversed by all-trans retinoic acid. *The Journal of Clinical Investigation* 106, 663-670.
- Ghannadi, A., Shabani, L., Yegdaneh, A., 2016. Antioxidant and phytochemical analysis of *Gracilaria* species from Persian Gulf. *Advanced Biomedical Research* 5, 139- 139 .
- Kim, Y.H., Chung, C.B., Kim, J.G., Ko, K.I., Park, S.H., Kim, J.H., Eom, S.Y., Kim, Y.S., Hwang, Y.I., Kim, K.H., 2008. Anti-wrinkle activity of ziyuglycoside I isolated from a *Sanguisorba officinalis* root extract and its application as a cosmeceutical ingredient. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 1347-6947.
- Kohen, R., Nyska, A., 2002. Invited review: Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicology Pathology* 30, 620-650.
- Lee, S., Lee, Y.S., Jung, S.H., Kang, S.S., Shin, K.H., 2003. Anti-oxidant activities of fucosterol from the marine algae *Pelvetia siliquosa*. *Archives of Pharmacal Research* 26, 719-722.
- Tabarsa, M., Masoud, R., Ramezanzpour, Z., Waaland, J.R., 2012. Chemical compositions of the marine algae *Gracilaria salicornia* (Rhodophyta) and *Ulva lactuca* (Chlorophyta) as a potential food source. *Journal of Science Food Agriculture* 92, 2500-2506.
- Nasiri, M., Saeidnia, S., Mashinchian-Moradi, A., Gohari, A.R., 2011. Sterols from the red algae, *Gracilaria salicornia* and *Hypnea flagelliformis*, from Persian Gulf. *Pharmacognocny Magazine* 7, 97-100 .
- Poppel, G.V., Goldbohm, R.A., 1995. Epidemiologic evidence for betacaroten and cancer prevention. *American Journal of Clinical Nutrition* 62, 1393-1402.
- Raja, R., Hemaiswarya, S., Rengasamy, R., 2007. Exploitation of *Dunaliella* for β -carotene production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(3), 517- 523.
- Paramsivam, R. Y., Susmitha, S., Shalini, S., Vijayaraghavan Ramasamy. 2016. Study on Metabolic compounds of *Gracilaria salicornia* against anti-inflammatory activity. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 5(4), 202-211 .
- Rittié, L., Fisher, G.J., 2002. UV-light-induced signal cascades and skin aging. *Ageing Research Review* 1, 705-720.
- Saeidnia, S., Gohari, A.R., Shahverdi, A.R., Permeh, P., Nasiri, M., Mollazadeh, K., Farahani, F., 2009. Biological activity of two red algae, *Gracilaria salicornia* and *Hypnea flagelliformis* from Persian Gulf. *Pharmacognocny Research* 1, 428-430.
- Tapiero, H., Townsend, D.M., Tew, K.D., 2003. Phytosterols in the prevention of human pathologies. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 57, 321- 325.
- Verschooten, L., Claerhout, S., Van Laethem, A., 2006. New strategies of photoprotection. *Photochemistry and Photobiology* 82, 1016-1023.