ISSN: 2476-6917; Modares Journal of Biotechnology. 2018;9(3):411-415

Effect of Oscillatoria Cyanobacterium Extract on Breast Cancer Cell Line and NM23 Gene Expression

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Akbari F.[1] *MSc*,
Salehzadeh A.[2] *PhD*,
Naeemi A.S.[3] *PhD*

How to cite this article
Akbari F, Salehzadeh A, Naeemi A S. Effect of Oscillatoria Cyanobacterium Extract on Breast Cancer Cell Line and NM23 Gene Expression. Modares Journal of Biotechnology. 2018;9(3):411-415.

ABSTRACT

Aims Considered as one of the marine resources and due to their effective compounds, cyanobacteria activate the cell death process in cancer cells and, thus, may be used as a new source. The aim of the current research was to evaluate the effect of *Oscillatoria cyanobacterium* extract on breast cancer cell line and NM23 gene expression.

Materials & Methods In the present experimental study, *Oscillatoria cyanobacterium* was cultured in a negative zayander medium at 26°C to 28°C with a light intensity of 350 to 3500lux, under 12-hour lighting and 12-hour darkness, and the MCF-7 cell line was prepared. Breast cancer cells were treated by hydroalcoholic extracts of oscillatoria with different concentrations. The effect of extract on cell survival was evaluated by MTT assay and the effect of the extract on the changes of NM23 gene expression was investigated by Real-Time PCR.

Findings The morphology of MCF-7 cell line showed that the *Oscillatoria cyanobacterium* extract significantly altered the treated cells compared with control cells. The survival of cells decreased with increasing concentration, and there was a significant difference compared to the control sample. After 24 hours, the extract inhibited 50% cell survival at a concentration of 0.6mg/ml ($p<0.001$). The NM23 gene expression significantly increased over a 24-hour period compared with the control sample.

Conclusion *Oscillatoria cyanobacterium* extract decreases the breast cancer cell line and increases the NM23 gene expression.

Keywords Breast Cancer; Oscillatoria; NM23 Gene Expression

Archive

CITATION LINKS

[1] Molecular genetics, diagnosis and treatment of breast cancer: Review article [2] Effect of hydro alcoholic extract of citrullus colocynthis fruit on caspase 3 gene expression in MCF-7 breast cancer cell line [3] The effect of Persian Gulf sea cucumber alcoholic extract on osteogenic and adipodgenic differentiation of rat mesenchymal stem cells [4] Novel mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes in Iranian women with early-onset breast cancer [5] The importance of distance metastases hormon-sensitive breast cancer [6] Brain metastases secondary to breast cancer: Symptoms, prognosis and evolution [7] The role of prognostic factors in breast cancer recurrence in patients referred to radiotherapy-Oncology in Imam Hossein Hospital [8] Expression of Bcl-2 gene in primary breast cancer and its correlation with some prognostic factors [9] Cytochrome c activation of CPP32-like proteolysis plays a critical role in a Xenopus cell-free apoptosis system [10] Role of glutathione in protecting endothelial cells against hydrogen peroxide oxidant injury [11] Benign disorders and disease of the breast: Concepts and clinical management [12] Beliefs and behaviours of Iranian teachers toward early detection of breast cancer and breast self-examination [13] Clinically oriented anatomy [14] Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites [15] Effect of Microcystin-LR on cell viability and apoptosis-related proteins in primary cultured Sertoli cells for 48h [16] Apoptotic mechanism of MCF-7 breast cells in vivo and in vitro induced by photodynamic therapy with C-phycocyanin [17] Anticancer activity of oscillatoria terebrieormis cyanobacteria in human lung cancer cell line a549 [18] AModular strategies for structure and function employed by marine cyanobacteria: Characterization and synthesis of pitinoic acids

[1]Biology Department, Science Faculty, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran
[2]Biology Department, Science Faculty, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
[3]Biology Department, Science Faculty, University of Guilan, Rasht, Iran

***Correspondence**
Address: Rasht Branch, Islamic Azad University, Lakan Boulevard, Rasht, Guilan, Iran. Post Address: 4147654919
Phone: +98 (13) 33422153
Fax: -
salehzadeh@iaurasht.ac.ir

Article History
Received: May 13, 2016
Accepted: February 20, 2017
ePublished: September 22, 2018

Copyright© 2018, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

www.SID.ir

تاثیر عصاره سیانوباکتری اسیلاتوریا روی رده سلولی سرطان پستان و بیان ژن NM23

فاطمه اکبری MSc
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران
علی صالح‌زاده* PhD
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
اکرم‌سادات نعیمی PhD
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

چکیده
اهداف: سیانوباکتری‌ها که به‌عنوان یکی از منابع دریایی هستند، به‌دلیل داشتن ترکیبات موثر سبب فعال‌شدن روند مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی می‌شوند و لذا ممکن است بتوانند به‌عنوان منبع جدید مورد استفاده قرار بگیرند. هدف این پژوهش بررسی تاثیر عصاره سیانوباکتری اسیلاتوریا روی رده سلولی سرطان پستان و بیان ژن NM23 بود.
مواد و روش‌ها: در پژوهش تجربی حاضر، سیانوباکتری اسیلاتوریا در محیط کشت زایندر منفی در دمای ۲۶ تا ۲۸°C، با شدت نور ۳۵۰ تا ۳۵۰۰لوکس و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، کشت و رده سلولی MCF-7 نیز تهیه شد. سلول‌های سرطان پستان توسط عصاره هیدروالکلی اسیلاتوریا با غلظت‌های مختلف تیمار شدند. تاثیر عصاره بر زنده‌ماندن سلول‌ها توسط آزمایش MTT assay ارزیابی و اثر عصاره روی تغییرات بیان ژن NM23 توسط Real Time PCR بررسی شد.
یافته‌ها: مورفولوژی رده سلولی MCF-7 نشان داد که عصاره سیانوباکتری اسیلاتوریا تغییرات قابل توجهی در سلول‌های تیمارشده در مقایسه با سلول‌های کنترل در خصوصیات مورفولوژی سلول‌ها ایجاد کرد. با افزایش غلظت، زنده‌ماندن سلول‌ها کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری نسبت به نمونه کنترل داشت. عصاره پس از گذشت ۲۴ ساعت، باعث مهار ۵۰درصدی بقای سلول‌ها در غلظت ۰/۶میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($p<0/001$) شد. بیان ژن NM23 در زمان ۲۴ ساعت به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه کنترل افزایش یافت.
نتیجه‌گیری: عصاره سیانوباکتری اسیلاتوریا باعث کاهش در رده سلولی سرطان پستان و افزایش بیان ژن NM23 می‌شود.
کلیدواژه‌ها: سرطان پستان، اسیلاتوریا، بیان ژن NM23

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۰۲
*نویسنده مسئول: salehzadeh@iaurasht.ac.ir

مقدمه
سرطان پستان، ناشی از رشد خارج از قاعده سلول‌های غیرطبیعی در پستان است. بدخیمی با منشا اپیتلیال پستان، شایع‌ترین علت سرطان در زنان است که حدود ۱/۳% همه سرطان‌های زنان را تشکیل می‌دهد[1]. سرطان پستان ۳۰% سرطان‌های زنان را شامل می‌شود. سرطان پستان در ایران کمتر از نقاط دیگر آسیا بوده، در حالی که طی دهه اخیر شیوع این سرطان در زنان ایرانی رشد بالایی داشته که نگران‌کننده است[2]. علاوه بر آن در زنان ایرانی حداکثر سن ابتلا به سرطان پستان حدود یک‌دهم کمتر از زنان در کشورهای پیشرفته است و سن و جنس مهم‌ترین متغیرهای دخیل در بروز سرطان هستند. امروزه مشخص شده که نرخ مرگ‌ومیر در مردان به‌دلیل تشخیص دیرتر بیماری در مراحل پیشرفته‌تر، بالاتر از زنان است[3]. بیشترین میزان مرگ‌ومیر مربوط به بیماری در سن ۴۴-۴۰سالگی رخ می‌دهد. این بدخیمی یک بیماری وابسته به هورمون است و از عوامل خطر دیگر می‌توان به تنوع جغرافیایی، سن، تاریخچه فامیلی، تاریخچه حاملگی، بارداری، داروی ضدبارداری خوراکی، چاقی، رژیم غذایی با چربی و مصرف الکل نیز اشاره کرد[4].

یکی از مهم‌ترین مشکلات سرطان، متاستاز سلول‌های سرطانی به ارگان‌های دیگر است. بیشترین متاستاز مربوط به ریه با شیوع ۷۰-۶۰% است[5] و یکی از بدترین متاستازها، متاستاز مغز است[6]. مطالعات در دو دهه اخیر نشان داده است که مکانیزم‌های مختلفی در شروع و پیشرفت سرطان پستان نقش دارند. وقتی سرطان به درگیری نسج پستان محدود می‌شود، میزان بقا بالاست، اما وقتی انتشار سلول‌ها به بافت‌های دیگر اتفاق می‌افتد، به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. کیفیت زندگی بیماران با حالت متاستاز در وضعیت بدتری نسبت به بیماران با سرطان موضعی قرار دارد، لذا با شناسایی فرآیند متاستاز و عوامل موثر بر آن به بهبود بقای طولانی‌مدت بیماران کمک شایانی خواهد شد[7, 8].

سیانوباکتری‌ها موجودات پروکاریوت هستند. اسیلاتوریا (Oscillatoria) یک سیانوباکتری چندسلولی و رشته‌ای است که در آب‌های شور و شیرین زندگی می‌کند و دارای پراکنش جهانی است[9]. این سیانوباکتری دارای تریکوم‌های منظم و جداجدا به قطر یک تا ۱۰۰نانومتر است که به‌صورت مارپیچی و قابل انعطاف مشاهده می‌شود. تریکوم‌های این سیانوباکتری دارای حرکت‌اند و حرکت آنها یک تا ۱۱متر بر ثانیه تغییر می‌کند و دارای ترکیبات آنتی‌توموری و آنتی‌اکسیدانی است. همچنین به ترکیبات دیگری همانند کارتنوئیدها، لیکوپن، بتاکاروتن، لوتین، فیکوبیلی پروتئین، فیکوسیانین، مشتقات تریپن، پلی‌ساکاریدها، گلوکان، لکتین، فنل و بتائین نیز می‌توان اشاره کرد. همچنین در خانواده سیانوباکتری‌ها خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و انگلی نیز گزارش شده است[10]. پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر عصاره سیانوباکتری اسیلاتوریا روی رده سلولی سرطان پستان و بیان ژن NM23 انجام شد.

مواد و روش‌ها
در پژوهش تجربی حاضر، سیانوباکتری اسیلاتوریا (دانشگاه گیلان؛ ایران) در محیط کشت زایندر منفی در دمای ۲۶ تا ۲۸°C با شدت نور ۳۵۰ تا ۳۵۰۰لوکس و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی کشت داده شد. سپس محیط کشت از کاغذ صافی عبور داده و مخلوط صاف‌شده لیوفیلیزه شد. برای تهیه عصاره، ۳گرم پودر خشک‌شده سیانوباکتری اسیلاتوریا با ۱۰۰سی‌سی اتانول ۵۰% مخلوط شد و روی شیکر قرار گرفت و پس از ۲۴ ساعت از کاغذ صافی عبور داده شد. محلول صاف‌شده در دستگاه روتاری در دمای ۳۷°C قرار گرفت تا تغلیظ شود. سپس در آون با دمای ۶۰°C خشک شد. برای تهیه استوک به ۲۰میلی‌گرم پودر خشک عصاره، ۱۰میکرولیتر محیط کشت فاقد سرم اضافه و به‌آرامی حل شد.

کشت سلول سرطانی: رده سلولی MCF-7 (انستیتو پاستور؛ ایران) تهیه و پس از اطمینان از عدم آلودگی محیط کشت سلولی، مقدار مناسبی از سلول‌ها به فلاسک منتقل و ۵میلی‌لیتر محیط کشت RPMI 1640 (سیگما- آلدریچ؛ ایالات متحده) به‌همراه ۵میلی‌لیتر سرم جنین گاوی (FBS)، ۱۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین و ۱۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین اضافه شد. سپس به انکوباتور کشت انتقال یافت و در دمای ۳۷°C حاوی ۵% کربن‌دی‌اکسید (CO_2) و ۹۵% رطوبت کشت داده شد.

آزمون MTT: میزان حیات سلولی توسط آزمون MTT بررسی شد. برای انجام آزمون بعد از دوبار پاساژدادن، سلول‌ها به پلیت ۹۶خانه‌ای (۱۰۰۰۰ سلول در هر خانه) منتقل شدند. بعد از اتمام زمان تیمار سلول‌ها با عصاره اسیلاتوریا در زمان ۲۴ ساعت، محلول

Archive of SID
www.SID.ir

MTT به چاهک پلیت ۹۶خانه‌ای اضافه شد و به‌مدت ۳ ساعت در انکوباتور ۳۷°C قرار گرفت. سپس محلول رویی در چاهک‌ها خالی و ۱۰۰میکرولیتر محلول دی‌متیل‌سولفوکساید (DMSO) به هر کدام اضافه و به‌مدت ۱۰دقیقه برای حل‌کردن رسوب بنفش MTT تکان داده شد. سپس توسط الایزا ریدر جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۹۰نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه اثر عصاره سیانوباکتری اسیلاتوریا روی سلول‌های سرطانی MCF-7 و بررسی میزان مرگ سلول‌های تیمارشده از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{میزان مرگ سلول‌ها (درصد)} = \frac{\text{جذب نوری سلول‌های تیمارشده با عصاره روی هر چاهک}}{\text{میانگین جذب نوری سلول‌های کنترل}} \times 100$$

طراحی پرایمر: توالی ژن *NM23* از بانک ژن، استخراج و با توجه به آن، توالی پرایمر مورد نظر طراحی شد. پرایمرها توسط نرم‌افزار Beacon Designer 8 طراحی شدند و توسط NCBI BLAST از اختصاصی‌بودن محل اتصال پرایمرها اطمینان حاصل شد (جدول ۱).

جدول ۱) پرایمرهای مورد استفاده

نام پرایمر	پرایمرهای رفت و برگشت	اندازه محصول (جفت‌باز)	دمای ذوب (°C)
NM23 F	5'ATGGCCAACTGTGAGCGTACC3'	۲۰۰	۶۰
NM23R	5'CATGTATTTCACCAGGCCGGC3'	۲۰۰	۵۴
β-actin F	5'TCCTCCTGAGCGCAAGTAC3'	۱۵۰	۵۰
β-actin R	5'CCTGCTTGCTGATCCACT3'	۱۵۰	۶۰

استخراج RNA و تهیه cDNA : برای استخراج RNA ابتدا سلول MCF-7 توسط دوز ۵۰۰میکرومولار با عصاره سیانوباکتری اسیلاتوریا به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد، سپس سلول‌های کنترل و تیمارشده با غلظت‌های (۰/۰، ۰/۰۷۵، ۰/۱۵، ۰/۳، ۰/۶، ۱/۲، ۲/۵، ۵ و ۱۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) جدا و توسط بافر فسفات‌سالین (PBS) شست‌وشو داده شدند. ۲میلی‌لیتر RNX PLUS به سلول‌ها اضافه شد و نمونه به‌مدت ۵دقیقه در دمای ۳۷°C قرار گرفتند. سپس به میزان ۴۰۰میکرولیتر کلروفرم به نمونه اضافه شد. پس از تکان‌دادن شدید در دمای اتاق به‌مدت ۱۵دقیقه نگه داشته و سپس با سرعت ۱۲۰۰۰دور در دقیقه در دمای ۴°C سانتریفیوژ شد. بخش بالایی با سمپلر به یک تیوپ استریل منتقل و با ۵۰۰میکرولیتر ایزوپروپانول، مخلوط و به‌مدت ۵دقیقه در دمای ۴°C با سرعت ۱۲۰۰۰دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از خارج‌کردن فاز بالایی تیوپ، یک‌میلی‌لیتر اتانول ۷۵% اضافه شد. در ادامه، ترکیبات به‌مدت ۵دقیقه در دمای ۴°C با سرعت ۷۵۰۰دور در دقیقه سانتریفیوژ و فاز رویی خارج شد. در مرحله آخر RNA در ۳۰میکرولیتر آب مقطر استریل حل شد. کیفیت و کمیت مولکول‌های RNA به‌ترتیب با الکتروفورز ژل آگارز ۱% و با دستگاه نانودراپ Scandrop (Analytik Jena؛ آلمان) مورد بررسی قرار گرفت. سپس cDNA توسط کیت سنتز cDNA (فرمنتاز؛ ایالات متحده) از روی RNA استخراج‌شده سنتز شد.

ریل‌تایم پی‌سی‌آر (Real Time PCR): برای بررسی بیان ژن مورد مطالعه از روش کمیت‌سنجی با استفاده از دستگاه Real Time PCR (Bioneer؛ کره جنوبی) استفاده و محلول واکنش با حجم ۲۵میکرولیتر در تیوپ‌های مخصوص تهیه شد. این محلول شامل یک‌میکرولیتر cDNA، یک‌میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای رفت (Forward) و برگشت (Reverse)، ۱۲/۵میکرولیتر آنزیم (سیناژن؛ ایران) و ۹/۵میکرولیتر آب بود. تحلیل داده‌های Real Time PCR براساس مقایسه چرخه آستانه انجام شد. در این مطالعه، اختلاف چرخه‌های آستانه به‌دست‌آمده از نمونه‌های مورد آزمایش (سلول‌های تیمارشده با عصاره) و نمونه‌های کنترل (سلول‌های تیمارنشده با عصاره) محاسبه و با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ΔΔCt، نسبت ژن هدف به ژن مرجع (β-actin) از طریق محاسبه شد. فرمول محاسبه آن به شرح زیر است:

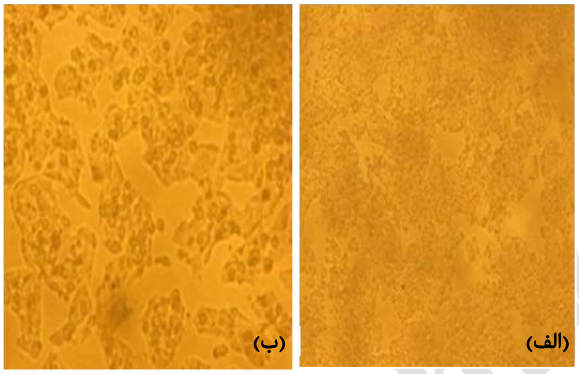
$$\Delta Ct = Ct \text{ هدف} - Ct \text{ مرجع}$$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct \text{ نمونه آزمایش} - \Delta Ct \text{ نمونه کنترل}$$

$2^{-\Delta\Delta Ct}$:بیان نسبی

یافته‌ها

مورفولوژی رده سلولی MCF-7 نشان داد که عصاره سیانوباکتری اسیلاتوریا تغییرات قابل توجهی در سلول‌های تیمارشده در مقایسه با سلول‌های کنترل در خصوصیات مورفولوژی سلول‌ها ایجاد کرد (شکل ۱).

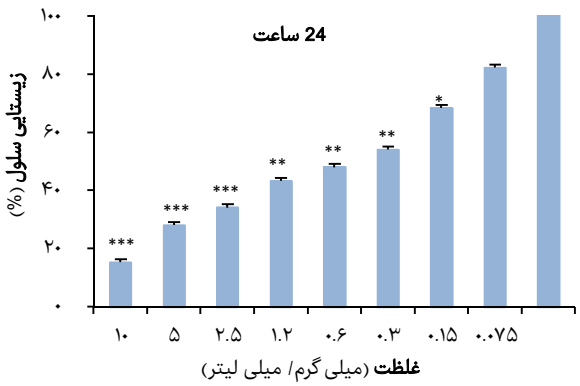


شکل ۱) سلول‌های کنترل سلول‌های تیمارشده با عصاره (بزرگ‌نمایی ۴۰)؛ الف: سلول‌های کنترل ب: سلول‌های تیمارشده با عصاره

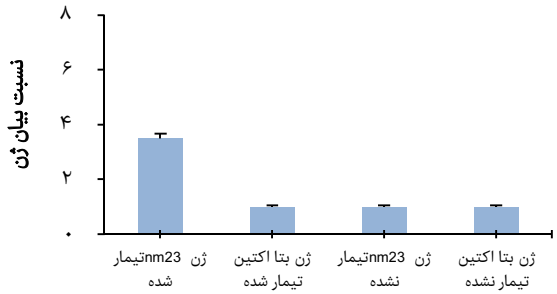
بعد از ۲۴ ساعت تحت تاثیر عصاره، میزان بقای سلول سرطانی تا حد زیادی کاهش یافت. در غلظت ۱۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پس از ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. در غلظت ۰/۰۷۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کمترین میزان کشته‌شدن سلول‌ها صورت گرفت و اختلاف معنی‌داری نیز نسبت به نمونه کنترل در این غلظت مشاهده نشد (نمودار ۱).

عصاره پس از گذشت ۲۴ ساعت، باعث مهار ۵۰درصدی بقای سلول‌ها در غلظت ۰/۶میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($p<0/001$) شد. داده‌ها بیانگر تغییر در بیان ژن NM23 در رده سلولی MCF-7 تیمارشده با عصاره سیانوباکتری اسیلاتوریا در غلظت ۰/۶میلی‌گرم بعد از ۲۴ ساعت بود. نسبت بیان ژن NM23 به ژن مرجع در رده سلولی MCF-7 تیمارشده با عصاره به‌ترتیب به میزان ۳/۵۴ ±۰/۷۶ طی ۲۴ ساعت تغییر یافت ($p<0/001$؛ نمودار ۲). سطح رونویسی ژن NM23 در سلول‌های تیمارشده به میزان ۳/۵۴برابر نسبت به ژن بتااکتین در سلول‌های تیمارشده و تیمارنشده (کنترل) افزایش یافت. همچنین سطح رونویسی ژن NM23 به میزان ۳/۵۴برابر نسبت به ژن NM23 در سلول‌های تیمارنشده(کنترل) افزایش یافت ($p<0/001$؛ نمودار ۲).

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۱) درصد زیستایی سلول‌های رده MCF-7 سرطان پستان تحت تاثیر عصاره هیدروالکلی سیانوباکتری اسیلاتوریا در زمان ۲۴ ساعت در مقایسه با گروه کنترل (گروهی که هیچ غلظتی از عصاره را دریافت نکرده است)؛ نتایج به‌صورت درصد بقا در مقایسه با نمونه کنترل گزارش شده است؛ *:p<۰/۰۵، **: p<۰/۰۱، ***: p<۰/۰۰۱



نمودار ۲) تغییرات بیان ژن NM23 تحت تاثیر عصاره اسیلاتوریا در غلظت ۰/۶میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (غلظت IC50)؛ ***: p<۰/۰۰۱

بحث

هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر عصاره سیانوباکتری اسیلاتوریا روی رده سلولی سرطان پستان و بیان ژن NM23 بود. سیانوباکتری‌ها متعلق به فراوان‌ترین گروه از موجودات کره زمین با دامنه وسیع پراکنش هستند که از جمله قدیمی‌ترین موجودات زنده این کره نیز به حساب می‌آیند. سیانوباکتری‌ها از کارآمدترین تولیدکنندگان ترکیبات طبیعی با کارآیی حداکثر هستند. این ریزموجودات به‌واسطه تولید دامنه وسیعی از متابولیت‌های ثانویه و تنوع مکانیزم‌های بیولوژیک، منحصربه‌فرد هستند. تاکنون بخش کوچکی از متابولیت‌های ارزشمند این گروه از ریزجلبک‌ها شناخته شده است که به‌عنوان سموم زیستی، منابع انرژی یا مصرف دارویی مورد استفاده قرار گرفته‌اند[11, 12].

سرطان پستان یک بیماری به‌شدت ناهمگن است که در اثر عوامل وراثتی و محیطی ایجاد می‌شود[13] و برای درمان این سرطان روش‌های مختلفی وجود دارد. علی‌رغم استفاده از راهکارهای درمانی از جمله جراحی، شیمی‌درمانی و رادیوتراپی همچنان میزان مرگ‌ومیر بیماران مبتلا به سرطان بالا بوده که بیانگر ناکارآمدی این روش‌های درمانی است. به‌علاوه تاثیر مخرب عوامل شیمی‌درمانی و پرتونگاری به سلول‌های نرمال در حال تقسیم از جمله معایب دیگر مرتبط با این فرآیندهای درمانی است. لذا استفاده از روش‌ها و منابع جدید در این زمینه احساس می‌شود[14].

در پژوهشی که روی مردم ژاپن و کره انجام گرفته، مشخص شده است که بین آنها شیوع کمتری از سرطان پستان، ریه و خون وجود داشت که احتمالاً دلیل آن می‌تواند استفاده این مردم از جلبک‌ها در وعده‌های غذایی خود باشد. این جلبک دارای خاصیت آنتی‌موتاژنیک بوده است و باعث کاهش اثر متاستازی در این گونه از سرطان‌ها می‌شود. این یافته‌ها در مطالعه حاضر نیز تایید شد. *بهارآرا* و همکاران اثر جلبک‌های دریایی را روی رده سرطان پستان مطالعه کرده و مشاهده کرده‌اند که گونه‌های قرمز، سبز و قهوه‌ای جلبک‌های دریایی روی رده MCF-7 سرطان پستان، سلول‌های سرطانی دهانه رحم (HeLLa)، سلول‌های سرطانی کبد انسان (HEPG2)، سرطان کولون (ht29) دارای اثر مهاری بوده و با افزایش دوز غلظت این جلبک‌ها، میزان مهار سلولی افزایش پیدا کرده و بیشترین اثر مهاری متعلق به رده MCF-7 سرطان پستان با IC50 (نصف حداکثر غلظت مهارکنندگی) برابر با ۰/۲ بوده که بیانگر مطابقت آنتی‌توموری با پژوهش حاضر بوده است[3]. *لی* و همکاران در بررسی مربوط به ترکیب میکروسیستین LR (Microcystin-LR) در سیانوباکتری نوستوک (Nostoc) و اسیلاتوریا، به این نتیجه رسیده‌اند که این ترکیب در غلظت ۲۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بعد از ۴۸ ساعت دارای اثر کشندگی روی ۵۰% سلول‌ها بوده و همچنین باعث افزایش بیان p53، کاهش بیان bax، افزایش بیان BCL-2 و همچنین CASPAS3 شده و این امر بیانگر آن است که این ترکیب در این سیانوباکتری‌ها توانسته است روی مراحل آپوپتوزی سلول تاثیرگذار باشد[15]. *لی* و همکاران تاثیرات ضدسرطانی فیکوسیانین خانواده آنابنا را بر رده سلولی سرطانی پستان انسانی بررسی کرده‌اند و نتایج حاصل نشان‌دهنده نوع تاثیرات ضدسرطانی فیکوسیانین با مهار تکثیر سلولی رده سلولی MCF-7 بوده و باعث تغییرات فراساختاری از جمله ازدست‌دادن میکروویلی، تراکم کروماتین و تغییرات غشایی شده است[16]. *موکاند* و همکاران طی بررسی که درباره اثر سمیت سلولی اسیلاتوریا بر رده سلول‌های A595 سرطان ریه انجام داده‌اند، نشان دادند که تاثیر غلظت‌های متفاوت از عصاره این سیانوباکتری طی ۲۴ ساعت توانسته در غلظت ۱/۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باعث ازبین‌رفتن سلول‌های سرطانی شود و مورفولوژی سلول سرطانی را تغییر داده است. لذا به این نتیجه رسیده‌اند که اسیلاتوریا دارای خاصیت ضدسرطانی بوده است[17].

مونتاسر و همکاران طی بررسی درباره تاثیر غلظت‌های مختلف سیانوباکتری لینگبیا (*Lyngbya* sp.) و انجام آزمون MTT روی سلول‌های A09DM سرطان ریه به این نتیجه رسیده‌اند که بعد از ۲۴ ساعت، غلظت ۰/۲میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باعث کشتن بیش از نیمی از سلول‌ها شده و در نتیجه توانسته است تا ۸۰% اثر آپوپتوزی در این سرطان را تشدید کند[18]. نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق نشان داد که در زمان ۲۴ ساعت با افزایش غلظت، میزان زیستایی سلول‌های سرطانی کاهش یافت که احتمالاً به‌دلیل تاثیر مهاری عصاره روی متاستاز بود. زیرا بیان ژن NM23 در سلول‌های متاستازی کاهش می‌یابد. خاصیت القای مرگ سلولی و افزایش بیان ژن NM23 را می‌توان به وجود ترکیبات خاص در اسیلاتوریا نسبت داد. در ارتباط با تحقیق حاضر از لحاظ تاثیر روی بیان ژن NM23 تحقیقات دیگری انجام نشده است و این تحقیق برای اولین‌بار انجام شد.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم امکان بررسی روی موجود زنده بود. پیشنهاد می‌شود که ترکیبات موثر عصاره اسیلاتوریا جداسازی شوند و هر کدام به‌تنهایی بررسی شوند.

نتیجه‌گیری

عصاره سیانوباکتری اسیلاتوریا باعث کاهش در رده سلولی سرطان پستان و افزایش بیان ژن NM23 می‌شود.

Archive of SID
www.SID.ir

تشکر و قدردانی: از آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه گیلان بابت تهیه سویه سیانوباکتری قدردانی می‌شود.

تاییدیه اخلاقی: این مقاله تاکنون در نشریه دیگری به چاپ نرسیده است. صحت و اعتبار تمامی مطالب مقاله از جمله مطالب مربوط به اخلاق در پژوهش، بر عهده نویسنده‌ها است.

تعارض منافع: نویسندگان مقاله هیچ گونه تعارض منافعی ندارند.

سهم نویسندگان: فاطمه اکبری (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/روش‌شناس/پژوهشگر اصلی (۳۵%)؛ علی صالح‌زاده (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/روش‌شناس/تحلیلگر آماری (۳۵%)؛ اکرم‌سادات نعیمی (نویسنده سوم)، نگارنده مقدمه/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۳۰%)

منابع مالی: موردی از سوی نویسندگان ذکر نشده است.

منابع

1- Noori Daloii MR, Tabarestani S. Molecular genetics, diagnosis and treatment of breast cancer: Review article. J Sabzevar Univ Med Sci. 2010;17(2):74-87. [Persian]

2- Davoodi R, Esmaeilzade Bahabadi S, Najafi Sh, Mazaheri Naeeini M. Effect of hydro alcoholic extract of citrullus colocynthis fruit on caspase 3 gene expression in MCF-7 breast cancer cell line. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 2015;23(5):508-18. [Persian]

3- Bahar Ara J, Amini E, Namvar F, Soltani M. The effect of Persian Gulf sea cucumber alcoholic extract on osteogenic and adipodgenic differentiation of rat mesenchymal stem cells. J Cell Tissue. 2014;5(3):273-80. [Persian]

4- Yassaee VR, Zeinali S, Harirchi I, Jarvandi S, Mohagheghi MA, Hornby DP. Novel mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes in Iranian women with early-onset breast cancer. Breast Cancer Res. 2002;4(4):R6.

5- Rugo HS. The importance of distance metastases hormon-sensitive breast cancer. Breast. 2008;17 Suppl 1:S3-8.

6- Oltean D, Dicu T, Eniu D. Brain metastases secondary to breast cancer: Symptoms, prognosis and evolution. Tumori. 2009;95(6):697-701.

7- Mirzaiee HR, Hajian S, Mofid B. The role of prognostic factors in breast cancer recurrence in patients referred to radiotherapy-Oncology in Imam Hossein Hospital. Iran J Breast Dis. 2008;1(2):18-23. [Persian]

8- Jalali Nadoushan MR, Davati A, Tavakoli Far A. Expression of Bcl-2 gene in primary breast cancer and its correlation with some prognostic factors. J Mazandaran Univ Med Sci. 2007;17(58):30-6. [Persian]

9- Kluck RM, Martin SJ, Hoffman BM, Zhou JS, Green DR, Newmeyer DD. Cytochrome c activation of CPP32-like proteolysis plays a critical role in a Xenopus cell-free apoptosis system. EMBO J. 1997;16(15):4639-49.

10- Andreoli SP, Mallett CP, Bergstein JM. Role of glutathione in protecting endothelial cells against hydrogen peroxide oxidant injury. J Lab Clin Med. 1986;108(3):190-8.

11- Mansel RE, Webster DJT. Benign disorders and disease of the breast: Concepts and clinical management. 2nd Edition. Philadelphia: W.B. Saunders; 2000.

12- Jarvandi S, Montazeri A, Harirchi I, Kazemnejad A. Beliefs and behaviours of Iranian teachers toward early detection of breast cancer and breast self-examination. Public Health. 2002;116(4):245-9.

13- Moore KL. Clinically oriented anatomy. 3rd Edition. Philadelphia: Williams & Wilkins; 1992.

14- Ördög V, Stirk WA, Lenobel R, Bancířová M, Strnad M, van Staden J, et al. Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites. J Appl Phycol. 2004;16(4):309-14.

15- Li JH, Wang Q, Li HY, Li Y, Xue LJ, Zhuang DG, et al. Effect of Microcystin-LR on cell viability and apoptosis-related proteins in primary cultured Sertoli cells for 48h. Life Sci J. 2014;11(12):704-10.

16- Li B, Chu X, Gao M, Li W. Apoptotic mechanism of MCF-7 breast cells in vivo and in vitro induced by photodynamic therapy with C-phycocyanin. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai). 2010;42(1):80-9.

17- Mukund S, Sivasubramanian V. Anticancer activity of Oscillatoria terebriformis cyanobacteria in human lung cancer cell line a 549. Int J Appl Biol Pharm Technol. 2014;5(2):34-45.

18- Montaser R, Paul VJ, Luesch H. Modular strategies for structure and function employed by marine cyanobacteria: Characterization and synthesis of pitinoic acids. Org Lett. 2013;15(16):4050-3.

Archive of SID

www.SID.ir