مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۶، شماره ۱۱، بهمن ۱۳۹۸ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات عصاره جلبک *Eeucheuma cottonii* روی ژن‌های *COX2* و *SOD* در سرطان پستان القاء شـده در مدل حیوانی موش بالب سی با روش Real Time –PCR

شهرزاد نخبه زعیم: کارشناسی‌ارشد، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، پرند، ایران

میترا حیدری نصرآبادی: دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، پرند، ایران (*نویسنده مسئول) heydarimitra45@gmail.com

مسعود صالحی پور: استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، پرند، ایران

چکیده

زمینه و هدف: جلبک قرمز خوراکی یوکیوما کوتونی ازنظر اقتصادی جهت تولید کاراگینان و آگار در سـواحل گرمسـیری برخـی مناطق آسیای شرقی کشت داده می‌شود. هدف مطالعه حاضر بررسی عصاره جلبک قرمز یوکیوما کوتونی و مقایسـه آن بـا داروی تاموکسیفن بر سرطان پستان به‌صورت in vivo می‌باشد.

روش کار: تومور پستان از طریق تزریق زیرپوستی سلول‌های MC4L2 در بافت پستان موش ماده ایجاد شـد،۴ هفتـه بعـد از رشد تومور، موش‌ها به‌طور خوراکی توسط عصاره جلبک و یا تاموکسیفن تیمار شدند. جهت انجام آزمایش‌ها موش‌ها بـه ۴ گـروه ده‌تایی تقسیم شدند شامل: ۱) گروه تیمارشده با عصاره جلبک ۲) گروه تیمـار شـده بـا تاموکسـیفن ۳) گـروه سـرطانی شـده بـا سلول‌های MC4L2 یا کنترل مثبت ۴) گروه نرمال یا کنترل منفی. میزان بیـان مارکرهـای SOD و COX۲ در سـطح ژن توسط روش Real Time -PCR مورد آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که هم تیمار با عصاره جلبک یوکیوما و هم تاموکسیفن منجر به کاهش بیان دو ژن مورد مطالعه نسبت به دو گروه دیگر شد. به‌طورکلی روش Real Time - PCR به‌طور آزمایشگاهی اثرات مثبت تیمارها روی سلول‌های سرطانی پستان را تأیید کردند.

نتیجه‌گیری: اطلاعات به‌دست‌آمده پیشنهاد می‌کند که این دو ژن به‌عنوان مارکرهای پروگنوستیک و به‌عنوان اهـداف اساسـی جهت درمان اهمیت دارند و عصاره جلبک یوکیوما کوتونی به دلیل اثرگذاری بر این دو ژن و همین‌طور اثرات آنتی‌اکسیدانی و نیز عدم سمیت روی بدن می‌تواند به‌عنوان یک درمان جدید درنظرگرفته شود.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

کلیدواژه‌ها

سرطان پستان،

عصاره جلبک یوکیوما کوتونی،

SOD،

COX2،

Real Time -PCR

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۵/۰۵

تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۰۷

شیوه استناد به این مقاله:

Nokhbeh Zaeem Sh, Heydari Nasrabadi M, Salehi pour M. Effects of *Eucheuma Cottoni L* Algae on *COX2* and *SOD* genes in breast cancer tissue induced in Balb-C mice by Real-Time PCR. Razi J Med Sci. 2020;26(11):87-97.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-14]

Razi Journal of Medical Sciences.2020;26(11):87-97. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

Effects of *Eucheuma Cottoni L* Algae on *COX2* and *SOD* genes in breast cancer tissue induced in Balb-C mice by Real-Time PCR

Shahrzad Nokhbeh Zaeem, MSc, Department of Biology, Parand Islamic Azad University, Tehran, Iran
Mitra Heydari Nasrabadi, Associate Professor, Department of Biology, Parand Islamic Azad University, Tehran, Iran
(*Corresponding authr) heydarimitra45@gmail.com
Masoud Salehi pour, Assistant Professor, Department of Biology, Parand Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: Edible red algae *Eucheuma Cottoni* is grown economically to produce carrageenan and agar on tropical beaches in some parts of East Asia. The aim of this study was to investigate the effect of *Eucheuma Cottoni* on breast cancer in a mouse model.
Methods: Breast tumor has been induced by subcutaneous injection of MC4L2 cells in female rat breast tissue. 4 weeks after tumor growth, mice were treated orally with algae extract and tamoxifen. In this study, the effects of algae extract and tamoxifen were evaluated on expression of *COX2* and *SOD* genes in 40 mice exposed to MC4L2 cancer cells. The mice were divided into 4 groups: 1) Algae treated group 2) Tamoxifen treated group 3) Cancer group with MC4L2 cells or positive control 4) Normal or negative control group. The expression of the *COX2* and SOD markers in gene level was analyzed by RT-qPCR.
Results: Extract and tamoxifen treatment resulted in decreased expression of the two genes studied. In general, the Real Time-PCR method verified the positive effects of the treatments on breast cancer cells.
Conclusion: The information suggests that these prognostic markers are important for treatment as the main goals and that the algae extract can be used as an alternative to tamoxifen and many other anticancer drugs, due to its antioxidant effects without toxicity on the human body.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Keywords
Breast Cancer,
Eucheuma Cottoni
Alcohol Extract,
SOD,
COX2,
Real Time -PCR

Received: 27/07/2019
Accepted: 28/12/2019

Cite this article as:
Nokhbeh Zaeem Sh, Heydari Nasrabadi M, Salehi pour M. Effects of *Eucheuma Cottoni L* Algae on *COX2* and *SOD* genes in breast cancer tissue induced in Balb-C mice by Real-Time PCR. Razi J Med Sci. 2020;26(11):87-97.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-14]

مقدمه

سرطان پستان علت اصلی ۱۴ درصد مرگ‌های ناشی از سرطان در زنان سراسر دنیا می‌باشد (۱، ۲). جمعیت‌های دارای رژیم بومی آسیای شرقی نسبت به جمعیت‌های با رژیم غربی، شیوع کمتری از سرطان پستان را نشان داده‌اند (۳) و این میزان پایین شیوع ممکن است به دلیل مصرف بالای غذاهای طبیعی به‌ویژه جلبک‌ها باشد (۴). بیشترین تعداد بیماران سرطانی که از مرگ جان سالم به دربرده‌اند کسانی هستند که از رژیم‌ها و درمان‌های طبیعی استفاده کرده و توانسته‌اند با پیشرفت سرطان مقابله کنند و یا آن را به تأخیر بیندازند. هدف ما در این پژوهش به‌کارگیری روش درمانی طبیعی بر پایه جلبک‌ها به‌منظور مقابله با سرطان پستان می‌باشد. شمس‌آبادی و همکارانش در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۳ به مقایسه تاموکسیفن و عصاره جلبک یوکیوما کوتونی در مهار سرطان پستان پرداختند و نتایج آنها نشان داد که عصاره یوکیوما به میزان ۲۷٪ مؤثرتر از تاموکسیفن عمل می‌کند و به‌عنوان یک مهارکننده قوی برای این سرطان پیشنهاد می‌شود. در مطالعه‌ای دیگر توسط Chern Huay و همکارانش در سال ۲۰۱۴ فعالیت سیتوتوکسیک عصاره یوکیوما کوتونی روی سلول‌های سرطانی انسانی MCF-7 در تومور پستان ارزیابی شد. آنها دریافتند که این عصاره به‌صورت وابسته به دوز و از طریق القای آپوپتوز سبب ازبین‌بردن این سلول‌ها می‌شود و به‌عنوان یک منبع قوی داروی ضد سرطانی طبیعی می‌تواند به کار رود. براساس برخی مطالعات پیشین و نیز مطالعه اخیر ثابت شده است که عصاره اتانولی جلبک یوکیوما کوتونی در مهار رشد تومور و بهبود وضعیت اکسیداتیو سلول‌های سرطانی مؤثرتر از تاموکسیفن می‌باشد و برخلاف تاموکسیفن سمیت کمتری روی کبد و کلیه‌ها دارد (۲،۴). آنزیم سیکلواکسیژناز (Cox)، آنزیم کلیدی در تبدیل اسید آراشیدونیک به پروستاگلاندین‌ها است. در پستانداران دو ایزوفرم از این آنزیم، به نام‌های Cox-۱ و Cox-۲ با ژن‌های مستقل و الگوی بیان متفاوت وجود دارد. آنزیم Cox-۱ در اکثر بافت‌ها به‌طور پیوسته بیان می‌شود، درحالی‌که Cox-۲ به‌عنوان جزئی از واکنش‌های التهابی در پاسخ به تحریکات خارج سلولی سریعاً القاء می‌گردد و میزان آن در اغلب بافته‌ای طبیعی غیرقابل سنجش می‌باشد. به‌علاوه Cox-۲ نقش مهمی در تنظیم تکثیر سلولی، تمایز زدایی و سرطان‌زایی ایفاء می‌کند. درواقع Cox-۲ با التهاب، درد، رگزایی و سرطان ارتباط دارد. مطالعات زیادی افزایش میزان Cox-۲ در سلول‌های ترانسفرم شده و اشکال مختلف سرطان ازجمله سرطان پستان را نشان داده‌اند. بنابراین مهار Cox-۲ به‌عنوان یک استراتژی امیدبخش و مؤثر برای درمان و جلوگیری از سرطان پستان مورد توجه قرار گرفته است. آنزیم Cox-۱ باعث تولید پروستاگلاندین‌هایی می‌شود که در عملکردهای فیزیولوژیکی طبیعی مثل نگهداری موکوس معده و تنظیم جریان خون کلیوی دخیل می‌باشند. درحالی‌که Cox-۲ ساخت پروستاگلاندین‌ها را در بافته‌ای نئوپلاستیک و التهابی افزایش می‌دهد و در ساخت پروستاگلاندین‌های مرتبط با درد و تب نقش دارد (۶). اخیراً Hla و همکارانش موش‌های ترانسژنیکی تولید کردند که قادرند ژن Cox-۲ انسانی را به میزان زیادی، به‌خصوص در غدد پستانی بیان کنند. این عمل سبب بروز فرکانس بالایی از هیپرپلازی، دیسپلازی و ترانسفورماسیون غدد پستانی در موش‌های ماده شد. این مشاهدات حاکی از تأثیر بیان Cox-۲ در القاء تومور پستان است. از طرفی دیگر، سمیت گونه‌های فعال اکسیژن (ROS=Reactive Oxygen Species) از عوامل اصلی دخیل در سرطان، پیری، بیماری‌های قلبی، آسیب‌های سلولی کبد و سایر اندام‌ها می‌باشد. یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی بدن در برابر حمله گونه‌های فعال اکسیژن، حضور و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) است. آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز آنزیم‌هایی هستند که واکنش تبدیل آنیون سوپراکسید O_{-2} به اکسیژن و پراکسید هیدروژن را کاتالیز می‌کنند. مطالعات نشان‌دهنده افزایش سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) در خون بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد طبیعی می‌باشد. به عبارتی گونه‌های فعال سبب افزایش بیان عناصر مسئول آنتی‌اکسیدانی و درنتیجه افزایش آنزیم‌های SOD و GPX می‌شود. افزایش SOD نشان از افزایش رادیکال سوپراکسید آنیون در سرطان پستان می‌باشد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-14]

پژوهش‌های انجام شده گویای آن است که فعالیت SOD در همان مراحل اولیه از بیماری افزایش می‌یابد، بنابراین با توجه به تغییرات افزایشی بارز در بیان دو ژن Cox-۲ و SOD در افراد مبتلا به سرطان پستان می‌توان از این دو ژن به‌عنوان مارکرهای مهم جهت تشخیص مبتلایان به سرطان پستان استفاده کرد. تاموکسیفن هم به‌عنوان یک داروی غیراستروئیدی و ضد استروژن به‌طور گسترده در درمان سرطان پستان مؤثر است. اگرچه اکثر بیماران به درمان با تاموکسیفن جواب مثبت می‌دهند اما در ۵۰ درصد بیماران با سرطان پستان که متاستاز داده‌اند و توسط تاموکسیفن مورد معالجه قرارگرفته‌اند نسبت به این دارو مقاومت ایجاد می‌کنند. بنا بر تحقیقات به‌عمل‌آمده، درمان با داروهای دیگر می‌تواند جهت مقابله با این مقاومت و بهتر شدن نتایج اثر تاموکسیفن پیشنهاد شود. عصاره جلبک یوکیوما کوتونی اثرات ضد تکثیری، ضد استروژنی و ضد اکسیدانی را برعلیه غدد توموری پستان در موش اعمال می‌کند بنابراین می‌تواند جایگزین خوبی برای درمان سرطان پستان باشد (۶). در این مطالعه ما تغییرات بیان مارکرهای Cox-۲ و SOD را در بافتهای تومور پستان موش‌هایی که توسط سلول‌های MC4L2 مبتلا شده بودند و تحت تیمار با عصاره جلبک و تاموکسیفن قرار گرفتند در سطح ژن مورد ارزیابی قرار دادیم.

روش کار

تهیه عصاره جلبک: یوکیوما کوتونی از سواحل بوشهر تهیه شد و نمونه‌ها توسط سایت مرجع، اطلس رنگی جلبک‌های خلیج‌فارس و سواحل دریای عمان و سایر منابع شناسایی شدند، جلبک‌ها پس از کشت ۴۵ روزه برداشت و با آب تازه شسته شدند و خشک شدند (۵). نمونه‌های خشک شده وزن شده و در اتانول ۷۰٪ برای ۲۴ ساعت غوطه‌ور شدند و سپس با کاغذ واتمن فیلتر و توسط دستگاه روتاری در ۴۰°C به یک خمیر زرد روشن تبدیل شدند و در نیتروژن مایع به حالت انجماد درآمده و در ظروف تاریک در دمای ۲۰°C - زمان استفاده نگهداری شدند (۱۱، ۱۲).

مطالعه حیوانی: تعدادی موش ماده نژاد بالب سی ۶ تا ۸ هفته‌ای با وزن ۲۰ گرم از انستیتو پاستور خریداری شد. حیوانات در قفسه‌های ۱۰ تایی در دمای ۳-۲۲°C با یک سیکل ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت نور و در رطوبت نسبی ۴۵٪ نگهداری شدند و با غذای معمولی و آب تغذیه شدند. ۴۰ عدد موش به‌طور رندوم به ۴ گروه مختلف ۱۰ تایی تقسیم شدند شامل: ۱) گروه نرمال یا منفی ۲) گروه موش‌های القا شده توسط MC4L2 بدون تیمار یا گروه کنترل مثبت ۳) موش‌های سرطانی تیمار شده با ۰/۴ میکروگرم عصاره جلبک ۴) موش‌های سرطانی تیمار شده با ۴ میکروگرم تاموکسیفن. پودر جلبک ایجاد شده در آب مقطر حل شد و به‌طور خوراکی یکبار در روز به مدت ۴ هفته به موش‌ها داده شد و تحقیقات توسط دانشکده پزشکی تهران مورد تأیید قرار گرفت (۳). به‌منظور سرطانی کردن موش‌ها از سلول‌های رده سلولی MC4L2 و جهت کشت آنها از محیط کشت DMEM خریداری شده از مرکز بین‌المللی ذخایر ژنتیک استفاده گردید. سلول‌ها در محیط کشت اختصاصی خود که دارای مکمل ۱۰٪ FBS می‌باشد کشت داده شدند سپس محیط کشت در فلاسکهای T25 قرار داده شد و محیط اضافی توسط پیپت پاستور استریل دور ریخته شد، حجم کلی ۵ میلی‌لیتر از PBS1X به فلاسکها جهت ممانعت از چسبندگی سلولی اضافه شد سپس سلول‌ها شسته شدند و محلول اضافی مجدداً دور ریخته شد در ادامه ۱ میلی‌لیتر محلول تریپسین به سلول‌ها اضافه شد و فلاسکها برای ۴ دقیقه انکوبه شدند و به آرامی تکان داده شدند تا سلول‌های موردنظر به راحتی از سطح محیط کشت جدا گردند. چندین بار پاساژ سلولی انجام گرفت و ساب کالچرها به نسبت ۱ به ۴ (سوسپانسیون سلولی نسبت به محیط کشت) رقیق گردیدند. ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون سلولی به ۴ میلی‌لیتر محیط در فلاسکها اضافه شد و به حجم نهایی ۵ میلی‌لیتر رسید و درنهایت فلاسکها در انکوباتور CO2 در دمای ۳۷C° قرار داده شدند. سلول‌های MC4L2 در فلاسکها به‌طور روزانه به‌منظور مشاهده میزان رشد سلولی توسط میکروسکوپ مورد ارزیابی قرار گرفتند (۹).

تعیین تعداد سلول: به‌منظور دسترسی به تعداد سلول‌ها، در ابتدا سلول‌های چسبنده بوسیله تریپسین EDTA/جدا شدند و سپس توسط اسلاید نئوبار طبق معادله زیر شمارش شدند: تعداد سلول در ۱ میلی‌لیتر=

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-14]

جدول ۱- توالی پرایمرها

Gene	Primers
COX2	F-AACCGCATTGCCTCTGAAT R-CATGTTCCAGGAGGATGGAG
SOD	F-TGGTCAGACCCGCTTATGTGTCAG R-ACCACAGAGCAGGGATTCAAGTACC
GAPDH	F-AGGCCGGTGCTGAGTATGTCGTG R-TCACAAACATGGGGGCATCGG

تعداد کل سلول‌های شمارش شده در ۴ مربع×فاکتور رقت×۲۵۰۰

بعد از شمارش حدود یک ونیم میلیون سلول ۲MC4L به‌طور زیرپوستی به موش تزریق شد و نهایتاً حجم تومور به‌وسیله کولیس ورنیه و با فرمول زیر اندازه‌گیری شد← (L. W.D л 1/6) بعدازاین مرحله، ۲ هفته بعد از تزریق سلول‌های سرطانی، موش‌ها توسط ۴/. میلی‌گرم عصاره جلبک و یا ۴ میلی‌گرم تاموکسیفن به‌طور روزانه تیمار گردیدند، سپس نمونه بافت و خون از موش‌های کشته شده گرفته شد و نمونه‌ها در فرمالین ۱۰٪ برای ۴۸ الی ۷۲ ساعت تثبیت شدند.

آنالیز RNA: Real Time –PCR کل از سلول‌های تهیه شده بعد از تیمار با عصاره و تاموکسیفن توسط کیت (GeneAll,South Korea Hybrid-R tm miRNA) جداسازی شد. با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری اندازه‌گیری شد، زمانی که جذب نوری در طول موج ۲۶۰/۲۸۰ بین ۱/۹ و ۲/۶ شد و دو باند ۱۸s و ۲۸s در روی ژل الکتروفورز بدست آمد بیانگر استخراج mRNA خالص بود که جهت ادامه روش PCR مورد استفاده قرار گرفت. سپس RNAهای بدست آمده با استفاده از پرایمرهای معکوس که از شرکت ماکروژن خریداری شد، رونویسی شدند (۱۳، ۱۴).

روش Real-Time PCR با استفاده از سیستم شناسایی توالی تحت شرایط زیر انجام شد: مرحله ابتدایی به‌منظور باز شدن دو رشته DNA در دمای ۹۳C° به مدت ۳ دقیقه و سپس ۴۰ سیکل با دمای ذوب ۹۳ به مدت ۲۵ ثانیه و دمای اتصال ۵۶ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و دمای طویل سازی ۷۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه جهت تکثیر توالی موردنظر صورت گرفت. پس از انجام مراحل بالا، الگوی باندها توسط سیستم ژل-داک مشاهده گردید و تصاویر ذخیره شد.

آنالیز آماری: اطلاعات براساس میانگین و انحراف استاندارد ارزیابی شد. برای همه آزمایشات از نرم‌افزار SPSSورژن ۱۷ استفاده گردید. برای مقایسه بین گروه‌ها روش آنووا و تست turkey>S انجام شد و P<۰/۰۵ ازنظر آماری معنادار درنظرگرفته شد.

یافته‌ها

اثر عصاره و تاموکسیفن روی وزن و حجم تومور: نتایج اندازه‌گیری وزن حیوانات در ابتدا افزایش معمولی را برای همه گروه‌ها نشان داد اما در گروه‌های تیمارشده با عصاره و تاموکسیفن، وزن موش پس از هفته دوم کاهش یافت و این کاهش در گروه تاموکسیفن نسبت به گروه عصاره مشهودتر بود.

اطلاعات حجم تومور هم کاهش معناداری را در گروه‌های تیمارشده در مقایسه با گروه تومور نشان داد (P<۰/۰۵) و همچنین مشاهده گردید که حجم تومور در گروه‌های تاموکسیفن و عصاره به ترتیب رشد توموری پایین‌تری در مقایسه با گروه تومور داشته‌اند در انتهای مطالعات حجم نهایی تومور برای گروه تومور ۲۸±۰/۰۹۵، برای تاموکسیفن ۰/۰۲±۰/۰۲۳ و برای عصاره ۰/۰۱±۰/۰۴ تعیین گردید (نمودارهای ۱ و ۲).

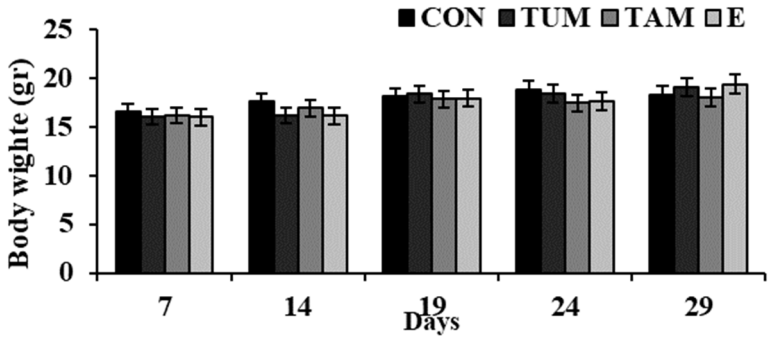
نتایج حاصل از Real Time PCR

نتایج حاصل از Real Time PCR، در نمودارهای ۳-۶ نشان داده شده است.

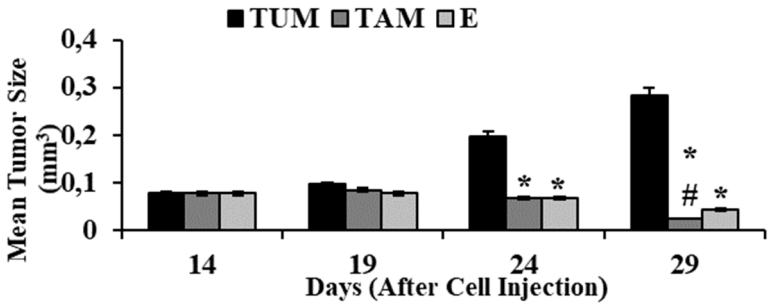
ارزیابی بیان ژن‌های SOD و COX2 بوسیله Real Time -PCR

۱) اثر تاموکسیفن و عصاره یوکیوما روی بیان ژن COX2: بیان ژن COX2 در بافت توموری پستان در

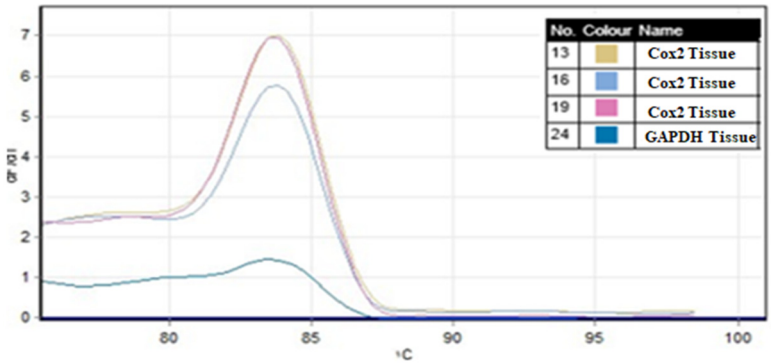
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-14]



نمودار ۱- وزن حیوانات در گروه‌های کنترل و تیمار شده با طی ۴ هفته
گروه‌ها: + CON (کنترل)، TUM (تومور)، TAM (تاموکسیفن)، E (عصاره یوکیوما)



نمودار ۲- میانگین حجم تومور در گروه کنترل مثبت و گروه‌های تیمار شده در طی ۴ هفته
علامت $P< 0.05$ * در مقایسه با گروه تومور
علامت $P< 0.05$ # در مقایسه با گروه جلبک یوکیوما
گروه‌ها: CON+ (کنترل)، TUM(تومور)، TAM (تاموکسیفن)، E (عصاره یوکیوما)

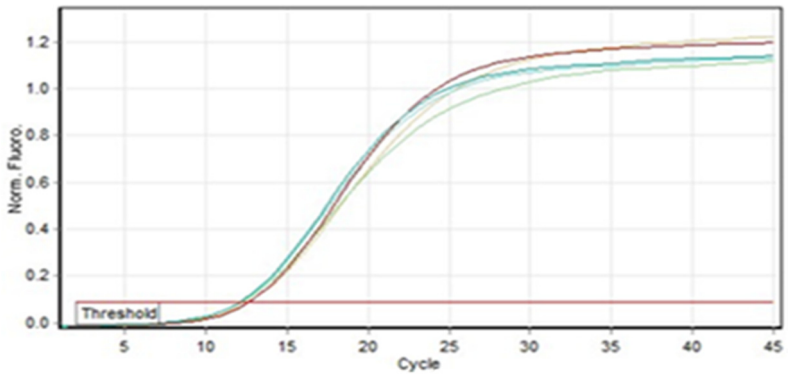


نمودار ۳- منحنی ذوب مربوط به Cox2 و نمونه کنترل: این نمودار وجود پیک در منحنی‌های ذوب مربوط به چند نمونه Cox2 که طبق انتظار در حدود ۸۴ درجه سانتی‌گراد قرارداد به همراه نمونه کنترل را نمایش می‌دهد.

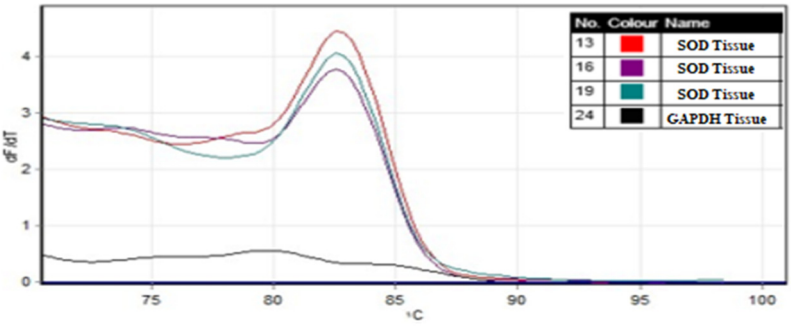
گروه تومور در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش معناداری را نشان داد (P<۰/۰۵). بیان ژن COX2 در گروه‌های تیمار شده نسبت به گروه تومور به‌طور معناداری کاهش یافت (P<۰/۰۵) و گروه تاموکسیفن نسبت به گروه عصاره کاهش بیشتری را نشان داد اما ازلحاظ آماری معنادار نبود (نمودار ۷).

۲) اثر تاموکسیفن و عصاره روی سطح ژن SOD: بیان ژن SOD در بافت تومور پستان به‌طور معناداری در گروه تومور در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت (P<۰/۰۵) اما بیان ژن SOD در گروه‌های تیمارشده در مقایسه با گروه تومور کاهش معناداری داشته است (P<۰/۰۵) و این در گروه تاموکسیفن کمتر از گروه

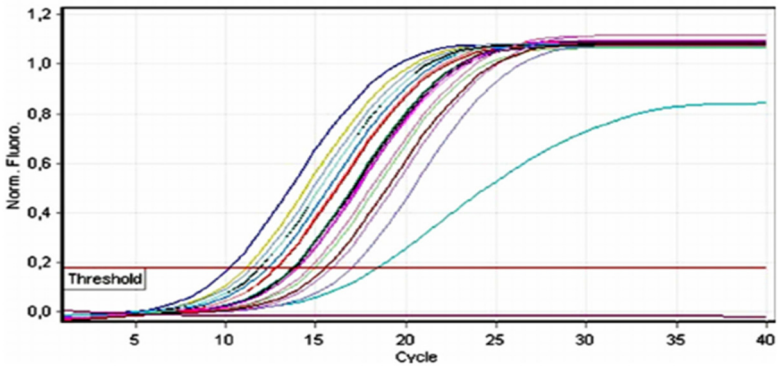
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-14]



نمودار ۴- منحنی quantitation مربوط به نتایج Real Time PCR ژن Cox2 که بیانگر حداقل تفاوت در بیان این ژن از نمونه‌ای به نمونه دیگر است.



نمودار ۵- منحنی ذوب مربوط به SOD و نمونه کنترل: این نمودار وجود پیک در منحنی‌های ذوب مربوط به چند نمونه SOD که طبق انتظار در حدود ۸۴ درجه سانتی‌گراد قراردارد به همراه نمونه کنترل را نمایش می‌دهد.



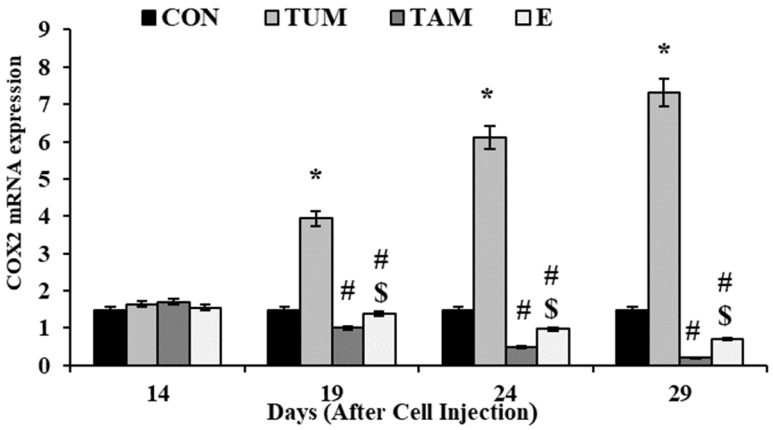
نمودار ۶- منحنی quantitation مربوط به نتایج Real Time PCR ژن SOD

عصاره بود اما ازلحاظ آماری معنادار نبود (نمودار ۸).

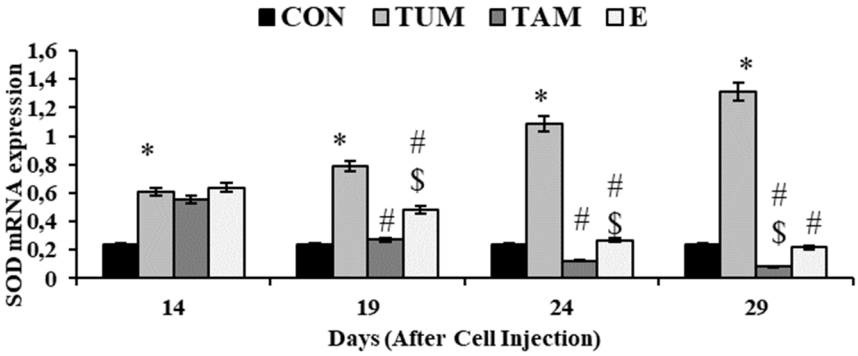
بحث و نتیجه‌گیری

از آنجائی که سرطان امروزه به‌عنوان یکی از نگرانی‌های اصلی جامعه انسانی، هزینه‌های اجتماعی، اقتصادی و روانی زیادی را بر پیکره جامعه وارد آورده است، مطالعات شناسایی ترکیبات با خصوصیات ضد توموری و توانایی بالا در ممانعت از رشد سلول‌های سرطانی با هزینه کمتر به‌طور چشمگیری رو به گسترش نهاده است. به دلیل اثرات جانبی ترکیبات صنعتی و داروهای شیمیایی ضد توموری، محققان بر آن شده‌اند که ترکیبات طبیعی با خواص ضد توموری پیدا کنند. امروزه اطلاعات در زمینه ترکیبات طبیعی به‌دست‌آمده از موجودات دریایی به ویژه جلبک‌ها که اثرات ضد باکتریایی، ضد ویروسی و ضد سرطانی دارند در سراسر جهان مورد توجه قرار گرفته است و هرساله

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-14]



نمودار ۷- بیان ژن COX2 در گروه‌های کنترل و تیمار شده در طی ۴ هفته
علامت * $P< 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل
علامت # $P< 0.05$ در مقایسه با گروه تومور
علامت$ $P< 0.05$ در مقایسه با گروه جلبک یوکیوما
گروه‌ها: +CON (کنترل)، TUM (تومور)، TAM (تاموکسیفن)، E (عصاره یوکیوما)



نمودار ۸- بیان ژن SOD در گروه‌های کنترل و تیمار شده در طی ۴ هفته
علامت* $P< 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل
علامت # $P< 0.05$ در مقایسه با گروه تومور
علامت $ $P< 0.05$ در مقایسه با گروه جلبک یوکیوما
گروه‌ها:+CON (کنترل)، TUM (تومور)، TAM (تاموکسیفن)، E (عصاره یوکیوما)

مطالعات جدیدتری در این مسیر انجام می‌شود که نتایج ارزشمندی در پی داشته است (۲۰-۱۸). در میان این جلبک‌ها می‌توان به اعضای شاخه جلبک‌های قرمز که بیشتر آنها مصارف کاربردی زیادی دارند اشاره کرد (۲۱). در سال ۲۰۰۲، هارادا و یاماشیتو، فعالیت ضد توموری پالمتیک اسید استخراج شده از جلبک قرمز را به‌عنوان یک عامل سیتوتوکسیک انتخابی در درمان سلول‌های لوکمیای انسانی به اثبات رساندند اما این اثر روی فیبروبلاستهای پوست انسان دیده نشد، در این مطالعه پالمتیک اسید در غلظت ۱۲/۵ الی ۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر اثرات سیتوتوکسیکی روی سلول‌های لوکمیا داشته است و نیز در غلظت ۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر در روی سلول‌های لوکمیای انسانی molt-4 دارای اثرات آپوپتوزی بوده است و در مطالعات بعدی این اثرات روی موش هم دیده شده است. جلبک یوکیوما کوتونی که بعضی‌اوقات به آن آشیانه پرندگان

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-14]

دریایی هم گفته می‌شود، یک نوع جلبک قرمز غنی از مواد مغذی است که برای سلامت بدن مفید است (۶). یکی از خصوصیات یوکیوما قدرت آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد که می‌تواند مواد کارسینوژنیک و اکسیدانت و رادیکال‌های آزاد را از محیط اطرافش حذف کند. تحقیقات مختلف نشان داده است که این عصاره غنی از مواد پلی فنولیک می‌باشد که می‌تواند از رشد سلول‌های سرطانی ممانعت کند.

ازآنجاکه یکی از سرطان‌های رایج در میان زنان، سرطان پستان می‌باشد در این مطالعه مورد توجه قرار گرفته است. در مطالعه انجام شده توسط شمس‌آبادی و همکاران اثرات این جلبک روی سلول‌های سرطانی پستان مورد بررسی قرار گرفته است و اثر آن با تاموکسیفن مقایسه شده است. نتایج نشان داد که این عصاره برخلاف داروهای شیمیایی اثرات سمی کمتری روی کبد و کلیه داشته است در حالی که اثر آن نسبت به تاموکسیفن بیشتر بوده است. در این زمینه مطالعه حاضر اثر جلبک یوکیوما را روی سلول‌های سرطانی پستان در مدل موش بالب سی مورد ارزیابی قرار گرفته است. نتایج اندازه حجم تومور که در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است در طول هفته‌های متوالی درمان تا انتهای مطالعه کاهش معنادار در میانگین حجم تومور در گروه دریافت‌کننده عصاره یوکیوما نسبت به گروه تومور مشاهده گردید. همچنین مشاهده شد که به ترتیب تیمارهای تاموکسیفن و عصاره یوکیوما به‌طور معناداری میزان رشد تومور کمتری نسبت به گروه توموری بدون تیمار داشته‌اند که با نتایج وزن تومور در گروه‌های فوق‌الذکر که در نمودار ۱ نشان داده شده است مطابقت دارد. نمودار ۳ و ۵ که به ترتیب منحنی ذوب مربوط به ژن‌های COX2 وSOD را نشان می‌دهد، به دلیل داشتن پیک یکسان در تمام نمونه‌ها قابل قبول می‌باشد. با توجه به اینکه هر ژن یک منحنی ذوب خاص خود را دارد که در نمونه‌های مختلف یکسان است بنابراین این نتیجه مورد تأیید است و وجود ژن‌های COX2 و SOD را در همه نمونه‌ها تأیید می‌کند. نمودار ۴ نشان می‌دهد که حداقل تفاوت در بیان ژن COX2 در بین نمونه‌ها وجود دارد اما نمودار ۶ بیانگر تفاوت در بیان ژن SOD در بین نمونه‌های آزمایش شده می‌باشد. طبق نمودار۷ و ۸ بیان ژن‌های SOD و COX2 در بافتهای توموری پستان در روش Real Time -PCR افزایش معنادار را در گروه تومور در مقایسه با گروه کنترل سالم نشان داد. بیان این ژن‌ها در گروه‌های تیمار شده با عصاره و تاموکسیفن یک کاهش معنادار را در مقایسه با گروه تومور نشان داد. نتایج مقایسه میانگین تیمارها بوسیله دانکن هم نشان داد که تیمارهای تومور بیشترین مقدار COX2 و SOD را در همه زمان‌ها داشتند و مقدار آن با گذشت زمان افزایش یافت اما مقدار آنها در تیمارهای عصاره و تاموکسیفن کاهش معناداری داشت و شدت این کاهش برای عصاره بیشتر بود. در مطالعه‌ای توسط Jian Wei Lee و همکارش در سال ۲۰۱۳ فعالیت ضد سرطانی و سیتوتوکسیک عصاره متانولی یوکیوما کوتونی را روی سلول‌های Hela بررسی کردند و نشان دادند که یوکیوما از طریق القای اپوپتوز سبب مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود. در این تحقیق هر چند از سلول سرطانی متفاوت و نیز روش متفاوتی نسبت به تحقیقات ما استفاده شد اما نتیجه کلی پژوهش که بیانگر خاصیت ضد سرطانی این عصاره می‌باشد با نتایج تحقیقات ما همسو بود. در پژوهش دیگر که توسط Ade Arsianti و همکارانش در سال ۲۰۱۸ بر روی سلول‌های Hela صورت گرفت، از چند روش مختلف برای استخراج عصاره استفاده شد اما بعد از بررسی میزان فعالیت سیتوتوکسیک عصاره توسط روش MTT مشخص شد که جلبک یوکیوما در تمام روش‌های استخراج فعالیت ضد سرطانی خود را حفظ کرده است بنابراین نتیجه کلی این تحقیق هم با نتایج ما مطابقت داشت (۲۴-۲۲). در تحقیق اخیر روش - Real Time PCR که روی دو مارکر مشخص SOD و COX2 که در تشخیص سرطان پستان نقش بسیاری دارند انجام گرفت، نتایج مشابهی با تحقیقات پیشین به دست آمد که باهم مطابقت داشتند و مؤثر بودن عصاره جلبک یوکیوما کوتونی را در درمان سرطان به اثبات می‌رساند. به‌طورکلی براساس این پژوهش‌ها و پژوهش‌های پیشین عصاره یوکیوما اثرات ضد اکسیدانی خود را از طریق کاهش SOD و افزایش GSH انجام می‌دهد بر این اساس به‌نظرمی‌رسد که عصاره یوکیوما نقشی دوگانه در فعالیت ضد توموری دارد. اولاً، از طریق کاهش SOD سبب مهار پراکسیداسیون لیپید می‌شود و رادیکال‌های

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-14]

اکسیداتیو را کاهش می‌دهد، ثانیاً از طریق افزایش بیان GSH در اریتروسیتها که رادیکال‌های اکسیداتیو در طول رشد تومور را خنثی می‌کند اثرات خود را اعمال می‌کند (۲۵). یکی دیگر از اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره یوکیوما که در مطالعه اخیر به اثبات رسیده است از طریق کاهش بیان ژن COX2 می‌باشد. احتمالاً افزایش میزان سیکلواکسیژناز-۲ میزان اسید آراشیدونیک آزاد داخل سلولی را پایین آورده و از آپوپتوز جلوگیری می‌کند. به عبارتی سیکلواکسیژناز-۲ موجب حذف سیگنال-های آپوپتوزی می‌شود. شاید محصولات واکنش آنزیمی Cox-2 منجر به تغییر در رشد سلولی، آپوپتوز، رگزایی و دیگر مراحل منجر به سرطان می‌شود. مکانیسم دقیق بیان Cox-2 و محصولات واکنش آن در تشکیل تومور کاملاً مشخص نیست. در کل، مکانیسم‌های وابسته به Cox-2 و پروستاگلاندین در پیشرفت از حالت طبیعی به نئوپلازی تأثیر می‌گذارند. به عبارتی افزایش بیان Cox-2 سبب طول عمر سلول‌های غیرطبیعی و تجمع تغییرات ژنتیکی متوالی و ازدیاد خطر تومورزایی می‌شود و به‌طور معکوس کاهش آن در اثر مصرف عصاره سبب القای آپوپتوز و حذف سلول‌های سرطانی و نهایتاً مهار روند سرطانزایی و آنژیوژنز می‌شود (۲۶). تاموکسیفن معمولاً برای ممانعت از عود سرطان استفاده می‌شود در حالی که محققین نشان دادند که عصاره یوکیوما قادر است از سرطان‌های القایی هم ممانعت کند. باوجود قدرت شفادهنده جلبک، معمولاً طعم جلبک مانع مصرف بیش‌ازحد آن توسط افراد می‌شود. در خاتمه، براساس نتایج این مطالعه به‌نظرمی‌رسد که یوکیوما کوتونی به‌عنوان یک ترکیب طبیعی و مؤثر از طریق کاهش سطح ژن‌های SOD و COX2 حجم و اندازه تومور در موش را کاهش داده است و می‌تواند همراه با داروهای شیمیایی دیگر در انسان‌ها مورد استفاده قرار بگیرد، به‌هرحال مطالعات تکمیلی‌تری برای بررسی استفاده از این ماده در انسان‌ها و ارزیابی میزان سمیت آن روی بافتهای مختلف انسانی موردنیاز است (۲۷، ۲۸). براساس نتایج مطالعات قبلی می‌تواند اینطور استنباط شود که اگرچه گونه‌های استفاده شده در این مطالعه متفاوت هستند اما اثرات نسبتاً مشابهی دارند همچنین مشخص شده است که یوکیوما دارای طیف گسترده‌ای از ترکیبات می‌باشد که هرکدام از آنها می‌توانند به‌طور جداگانه یا ترکیبی ازنظر اثرات درمانی به‌ویژه ضد سرطانی مورد آزمایش و ارزیابی قرار بگیرند، لذا با توجه به اینکه اثرات عصاره یوکیوما کوتونی هنوز به‌طورکامل مشخص نشده و مدل حیوانی در این زمینه زیاد به‌کاربرده نشده است بنابراین شناسایی اثرات این جلبک در شرایط آزمایشگاهی می‌تواند بسیار مفید واقع شود (۲۹). با توجه به نتایج مطالعات پیشین و نیز مطالعه اخیر، ژن‌های SOD و COX2 عوامل مهمی در پیش‌آگهی سرطان پستان می‌باشند و با بدخیمی سرطان ارتباط دارند لذا جهت به دست آوردن نتایج قطعی‌تر در مورد این ژن‌ها به‌عنوان مارکرهای پروگنوستیک در شناسایی و غربالگری سرطان و نیز به‌عنوان اهدافی اساسی جهت درمان سرطان پیشنهاد می‌شود که مطالعات با حجم نمونه بیشتر و پی گیری طولانی‌مدت‌تر و بررسی همزمان با نشانگرهای توموری دیگر صورت بگیرد (۳۰).

References

1. Ahmad zade S, Zandi K, Tajbakhsh S. [Effect of brown algae Extract of *Sargassum oligocystum* on inhibition of BLL and K562 cancer cells by Invitro]. 2008; thesis. (Persian)
2. Javadi A, Heydari Nasrabadi M, Bakhshi Khaniki GH. [Histopathological assesment of *sargassum tenerrimum* algae extract effect on the mice bone tissue with osteoporosis]. Razi J Med Sci. 2017;155(24):1-10. (Persian)
3. Sohrabi Poor J, Rabiee R. [Identification of Persian Gulf agarophyte potential]. Res Construct. 2006;77:1-8. (Persian)
4. Mozhdeh SH, Salehzadeh A, Moshfegh A. [Anti-cancer effects of LAurencia caspicaextract on T47D breast cancer]. Physiol Biotechnol Aqua Anim. 2016;1(4):69-83. (Persian)
5. Singh-Ranger G and Mokbel, K. The role of cyclooxygenase-2 (COX-2) in breast cancer, and implications of COX-2 inhibition. Eur J Surg Oncol. 2002;28(7):729-737.
6. Namvar F, Mohamed S, Ghasemi-Fard S, Behravan J, Mustaphab N, Banu N, et al. Polyphenol-rich seaweed *(Eucheuma cottonii)* extract suppresses breast tumor via hormone modulation and apoptosis induction. Food Chem. 2012;130(2):376-382.
7. Panieri E, Santoro MM. ROS homeostasis and metabolism: a dangerous liason in cancer cells. Cell

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-14]

Death Dis. 2016;7(105):2041-4889.
8. Zeidan BA, Townsend PA, Garbis SD, Copson E, Cutress RI. Clinical proteomics and breast cancer. Surgeon. 2015;13(5):271-278.
9. Ashraf AB, Daye D, Gavenonis S, Mies C, Feldman M, Rosen M, et al. Identification of intrinsic imaging phenotypes for Breast Cancer tumors: preliminary associations with gene expression profiles. Radiology. 2014;272(2):374-384.
10. Reis-Filho JS, Pusztai L. Gene expression profiling in breast cancer: classification, prognostication, and prediction. Lancet. 2011;378(9805):1812-1823.
11. Roohinejad Sh, Koubaa M, Barba FJ, Saljoughian S, Amid M, Greiner R. Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. Food Res Int. 2017;99(3):1066-1083.
12. Gutierrez-Rodriguez AG, Juarez-Portilla C, Olivares-Banuelos T, Zepeda CR. Anticancer activity of seaweeds. Drug Discov Today. 2018;23(2):434-447.
13. The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. Research Article; 2012. 490: 61-70.
14. Kim JY, Han W, Moon H G, Kyung Ahn S, Kim J, Lee JW, et al. Prognostic effect of preoperative serum estradiol level in postmenopausal breast cancer. BMC Cancer. 2013;13:503.
15. Shamsabadi FT, Khoddami A, Fard SG, Abdullah R, Othman HH, Mohamed S. Comparison of tamoxifen with edible seaweed (Eucheuma cottonii L.) extract in suppressing breast tumor. Nutr Cancer; 2013;65(2):255-262.
16. Jana D, Sarkar D K, Ganguly S, Saha Sh, Sa G, Manna AK, et al. Role of Cyclooxygenase 2 (COX-2) in Prognosis of Breast Cancer. Indian J Surg Oncol. 2014;5(1):59-65.
17. Griess B, Tom E, Domann F, Teoh-Fitzgerald M. Extracellular superoxide dismutase and its role in cancer. Free Rad Biol Med. 2017;112:464-479.
18. Geiger T, Cox J, Mann M. Proteomic changes resulting from gene copy number variations in cancer cells. Plos Gen. 2010;6(9):100-109.
19. Andergassen U, Zebisch M, Kolbl C A, Konig A, Heublein S, Schroder L, et al. Real-Time qPCR-Based Detection of Circulating Tumor Cells from Blood Samples of Adjuvant Breast Cancer Patients: A Preliminary Study. Breast Care. 2016;11:194-198.
20. Murugan K, Iyer VV. Differential growth inhibition of cancer cell lines and antioxidant activity of extracts of red, brown, and green marine algae. In Vitro Cell Develop Biol Animal. 2013;49(5):324-334.
21. Namvar F, Mohamed S, Ghasemifard S, Behravan J, Mustapha MN, Banu M, et al. Polyphenol-rich seaweed (Eucheuma cottonii) extract suppresses breast tumour via hormone modulation and apoptosis induction. Food Chem. 2012;130(2):376-382.
22. Namvar F, Baharara J, Mahdi AA. Antioxidant and Anticancer Activities of Selected Persian Gulf Algae. Indian J Clin Biochem. 2014;29(1):13-20.
23. Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. Comprehen Rev Food Sci Food Safe. 2004;3(1):21-33.
24. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. Nutr Rev. 2012;70(5):257-265.
25. Funahashi H, Imai T, Mase T, Sekiya M, Yokoi K, Hayashi H, et al. Seaweed prevents breast cancer? Jpn J Cancer Res. 2001;95(2):483-487.
26. Harris RE. Cyclooxygenase-2 (cox-2) blockade in the chemoprevention of cancers of the colon, breast, prostate, and lung. Drug Deliv Translat Res. 2009;17(2):55-67.
27. Mhadhebi L, Chaieb K, Bouraoui A. Evaluation of antimicrobial activity of organic fractions of six marine algae from Tunisian Mediterranean coasts. Int J Pharm Pharm Sci. 2012;4(1):534-537.
28. Matanjun P, Mohamed S, Mohamed Mustapha N, Muhammad K, Ming CH. Antioxidant activities and phenolics content of eight species of seaweeds from north Borneo. J Appl Phycol. 2008;20(4):367.
29. Patel S. Breast cancer: Lesser-known facets and hypotheses. Biomed Pharmacother. 2018;98:499-506.
30. Momenimovahed Z, Salehiniya H. Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. Breast Cancer Targets Ther. 2019;11:151-164.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-14]