فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۱، جلد ۸، شماره ۴، پائیز ۹۴، صفحه ۶۷ تا ۷۷

# مقایسه اثر مهاری فیکوسیانین(*Anabaena* sp. ISC 55 ) با داروی پکلی تاکسل بر رشد سلول های سرطان پستان نوع 4T1

فرناز دباغ مقدم[۱]، **سمیه حامدی**[۲]، مهروز دزفولیان[۳]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی-تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، البرز. ایران.

۲-گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، البرز. ایران. **sahar_hamedi@yahoo.com**

۳-استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، البرز. ایران.

**تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۱۹ تاریخ پذیرش:۹۴/۸/۲۵**

## چکیده

**مقدمه و هدف: سرطان پستان به عنوان شایع ترین تومور بدخیم در زنان سراسر دنیا شناخته شده است. مطالعات متعددی در ارتباط با خواص ضد سرطانی بیلی پروتئین فیکوسیانین سویه های مختلف سیانوباکتری ها انجام گرفته است. از این رو برای اولین بار به مطالعه تاثیرات ضد سرطانی فیکوسیانین سیانوباکتری *Anabaena* sp. ISC 55 و مقایسه آن با داروی پکلی تاکسل بر رده ی سلولی سرطان پستان 4T1 پرداخته شده است.**

**روش کار: پس از کشت سیانوباکتری در شرایط خاص، از روش های اختصاصی جهت استخراج فیکوسیانین استفاده گردید. سلول‌های سرطانی پستان 4T1 کشت داده شدند. برای اطمینان از انجام طرح تست های تشکیل کلنی در آگار، آزمون های MTT و چسبندگی انجام گرفت. اثر سایتوتوکسیسیتی فیکوسیانین و داروی پکلی تاکسل در غلظت های مختلف(۲۵۰، ۲۰۰، ۱۷۵، ۱۵۰، ۱۲۵، ۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵، ۲۰، ۱۵، ۱۰ میلی لیتر /میلی گرم) و در بازه زمانی ۲٤ ساعت انکوباسیون سلولی مورد آزمایش قرار گرفت. تاثیرات این غلظت ها بر درصد سلول های زنده از نظر تغییرات مورفولوژیکی با میکروسکوپ معکوس و آنالیز آماری ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey مورد بررسی قرار گرفتند.**

**یافته ها: نتایج حاصله نشان دهنده ی افزایش خاصیت ضد سرطانی فیکوسیانین در غلظت های بالا با افزایش آپاپتوز با سطح معنادار $P<0/001$ بود.**

**نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، فیکوسیانین *آنابنا* دارای خاصیت ضد سرطانی می باشد که با افزایش غلظت، اثر مهاری بر رشد سلول‌های سرطانی 4T1 افزایش پیدا نمود.**

**واژه‌های کلیدی:** *Anabaena* sp. ISC 55، فیکوسیانین، آزمون MTT، پکلی تاکسل، رده سلولی 4T1.

## مقدمه

سرطان پستان به عنوان شایع ترین نوع بیماری در زنان با میانگین سنی ۴۰ تا ۵۵ سال شناخته شده است(۱۵). سرطان بدخیم پستان دومین دلیل مرگ ناشی از سرطان در زنان بوده به طوری که ۳۳٪ از کل سرطان های شایع در جهان و ۱۹٪ از کل مرگ و میرهای ناشی از سرطان‌ها را شامل می شود که علت اصلی این مرگ و میرها به دلیل متاستاز بالای این بیماری می باشد(۵). سرطان نتیجه‌ی به هم خوردن تعادل در مکانیسم و فرآورده های ژن هایی است که عملکرد مهار کنندگی تقسیم سلولی را بر عهده دارند(۲۳). پکلی تاکسل یک داروی ضد سرطان سایتواستاتیک از خانواده تاکسان ها می باشد که در درمان سرطان سینه، تخمدان، سر و گردن و سلول‌های غیر کوچک ریه مورد استفاده قرار می گیرد(۱۱). تاکسل از گیاه سرخدار به دست می آید که دارای فرمول بسته $C_{47}H_{51}NO_{14}$ و وزن مولکولی ۸۵۳/۹۳ می‌باشد(۱۱).این دارو از عوامل آنتی میوتیک ممانعت کننده تقسیم سلولی است که اجتماع میکروتوبول ها و مقاومت آن ها در مقابل دپلیمریزه شدن را افزایش داده و در نتیجه باعث تثبیت و پلی مریزاسیون میکرو توبول ها می شود که با این مکانیسم باعث تشکیل دوک تقسیم

غیر طبیعی در طی عمل میتوز شده و در نتیجه رونویسی سلول ها را در مرحله $G_2$ یا M تقسیم متوقف می نماید و بدین ترتیب باعث مرگ سلول های در حال تکثیر می گردد(۱۶،۱۹،۲۹). پکلی تاکسل یک داروی شیمی درمانی جدید می باشد این مولکول تجمع میکروتوبول‌ها از دایمر های توبولین را تسهیل می کند و از طریق جلوگیری از دی پلی مریزاسیون میکروتوبول ها باعث تثبیت آن ها می شود(۱۱). امروزه یکی از گسترده ترین مطالعات برای درمان سرطان، در ارتباط با اثرات ضد سرطانی سیانوباکتری ها می باشد. سیانوباکتری ها جزئ باکتری های فتوسنتزی گرم منفی می باشند(۹). سیانوباکتری*Anabaena* sp. ISC 55 دارای ریسه های بدون انشعاب، کلنی های مجتمع، فیکوبیلی پروتئین و اغلب دارای هتروسیست های میانی هستند(۲). فیکوبیلی-پروتئین ها، پروتئین های پایداری هستند که شامل گروه-های پروتستیک کروموفور بوده و عامل خواص فلورسنتی برای این پروتئین ها می باشند(۱۴)، که بر اساس رنگشان به دو گروه فیکوسیانین(آبی) و فیکواریترین(قرمز) تقسیم شده و دارای رنگ های درخشان، خاصیت فلورسنتی بالا می باشند، اجزای پروتئینی محلول در آب از نوع کمپلکس های گیرنده های نوری فتوسنتتیک هستند(۸). فیکوسیانین یک نوع بیلی پروتئین محلول در آب و غیر سمی است(۲۴)، که از ترکیب دو زیر واحد آلفا و بتا با هم و به سه شکل سی فیکوسیانین، آر فیکوسیانین و آلو فیکوسیانین دیده می شوند و سی فیکوسیانین ها از طریق ارتباطات تیواترکه شامل باقی مانده های سیستئین هستند به پروتئین های اطراف متصل می گردند(۱۴). فیکوسیانین دارای خواص: ضد التهابی(۱۸)، ضد دیابتی(۲۲)، آنتی اکسیدانی(۷)، مهار رادیکال های آزاد(۳۱، ۷)، ضد قارچی(۲۰)، ضد باکتریایی(۲۷، ۲۱)، مهم ترین آن ماده مورد ضد سرطان(۲۶، ۱۸، ۱۷) می باشد که در واقع به عنوان نوعی القا کننده برای مرگ سلولی سلول های سرطانی از طریق دپلی مریزاسیون میکروتوبول ها و میکروفلامنت ها(۸)، کاهش سیکلو اکسیژناز۲(۸)، فعال سازی کاسپازهای ۳ و ۸ در مسیر آپاپتوز(۱۳)، دکربوکسیلار اورنیتین(۱۳)، تغییرات در نسبت Bcl2/Bax(۲۶) و نیز ایجاد تغییراتی در مرحله ی G0/G1 می باشد(۱۳). رده سلولی توموری موش(4T1) یکی از رده های مربوط به سرطان پستان است(۲۵). 4T1 از تومور خود به خود ایجاد شده در موش های نژاد BALB/c مشتق شده است که در محیط آزمایشگاهی دارای سرعت تکثیر بالا و نیز توانایی متاستاز به بافت های درگیر در طی سرطان پستان مانند ریه،کبد، مغز و استخوان را دارا می باشد(۶،۱۰). در این مطالعه تاثیرات ضد سرطانی فیکوسیانین استخراج شده از سیانوباکتری *Anabaena* sp. ISC 55 بر رده ی سلولی سرطان پستان4T1 و مقایسه نتایج حاصل با داروی پکلی تاکسل بررسی گردید.

## مواد و روش ها

### کشت سیانوباکتری

***Anabaena* sp. ISC 55 :** در این پژوهش از سیانوباکتری*Anabaena* sp. ISC 55 که از پژوهشکده علوم کاربردی جهاد دانشگاهی واحد شهید بهشتی فراهم آمده بود استفاده گردید. سیانوباکتری ها به مدت سه هفته در محیط کشت BG11، حاوی مواد و عناصر مغذی و استریل از جمله: نیترات سدیم، سولفات منیزیم، دی پتاسیم فسفریک اسید، کلسیم دی کلراید دو آبه، سیتریک اسید، فریک آمونیوم، EDTA و سدیم کربنات در مجاورت نور سفید لامپ های فلورسنتی با طول روشنایی ۶۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه در چند ردیف بالا و پایین، در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد کشت داده شدند.

### استخراج فیکوسیانین:

پس از کامل شدن دوره ی سه ماهه برای کشت سیانوباکتری و رسیدن به فاز سکون، در محیط استریل جداسازی صورت پذیرفت و نمونه ی55 sp. ISC *Anabaena* با قرار گرفتن در انکوباتور با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت کاملاً خشک شد. پس از تهیه پودر خشک شده، ۴۰ میلی گرم از نمونه با ۱۰ میلی لیتر بافر فسفات( ۱۰۰ میلی مولار، pH ۷/۵) مخلوط و پس از یکنواخت شدن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد، سپس در دور RPM ۱۰/۰۰۰، با دمای ۱۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ و در نهایت فاز رنگی رویی حاوی فیکوسیانین خارج و با دستگاه اسپکتوفتومتری UV-VIS بالاترین طول موج و نسبت جذب نوری و نسبت ۲۸۰/۶۲۰ نانومتر اندازه گیری شد. پس از استریل شدن توسط فیلترهای میکرونی، جهت انجام تست های مورد مطالعه آماده سازی گردید(۳).

**کشت سلولی:**

رده ی سلولی 4T1(NCBI code:C604) از بانک سلولی انستیتو پاستور(تهران-ایران) تهیه و در محیط کشت RPMI)-1640 Roswell Park Memorial Institute)حاوی(۱۰٪ حجم/حجم) سرم جنین گاوی، آنتی بیوتیک( در هر میلی لیتر ۱۰۰ واحد پنی سیلین و ۱۰۰ میکروگرم استرپتومایسین) تحت شرایط کنترل شده دما(۳۷ درجه سانتی گراد) و اتمسفر مرطوب حاوی CO2(۵٪) کشت داده شد. رده سلولی 4T1 به صورت تک لایه و چسبنده در کف فلاسک ها رشد نموده، به همین دلیل هر هفته سه بار تعویض محیط کشت در نظر گرفته شد و برای برداشتن سلول ها از محلول سترون تریپسین EDTA استفاده گردید. به منظور شمارش سلولی از رنگ آمیزی تریپان بلو ۰/۴٪ و لام هموسایتومتر(نئوبار) استفاده شد. سلول های زنده به دلیل حفظ تمامیت غشایی از ورود رنگ به داخل سیتوپلاسم ممانعت می کنند. در حالی که سلول های مرده به رنگ آبی و با اندازه ی درشت در می آیند(۱).

**تست تشکیل کلنی در آگار:**

این تست جهت بررسی مهاجم بودن سلول های 4T1 در محیط کشت سلولی انجام و سلول های4T1 پس از تریپسینه شدن، با لام نئوبار شمارش شدند. از طرفی آگارز ۲ درصد و ۰/۷ درصد استریل تهیه گردید و در بن ماری ۴۲ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس ۳ میلی لیتر محیط کشت RPMI1640 با ۳ میلی لیتر آگارز ۲٪ مخلوط و در کف هر چاهک از پلیت ۶ خانه ای مخصوص، به میزان ۱ میلی لیتر ریخته شد. سلول ها با تعداد مشخص با آگارز ۰/۷٪ و محیط کشت RPMI1640 حاوی سرم ۱۰ درصد جنین گاوی مخلوط و به هر ول ۱ میلی لیتر اضافه و پلیت به انکوباتور منتقل گردید. در واقع برای لایه ی زیرین هر چاهک ۱ میلی لیتر محیط کشت RPMI1640 حاوی سرم و ۲۵۰۰ سلول در نظر گرفته و بین روز های ۸-۱۲، تعداد تشکیل کلنی-ها مورد بررسی قرار گرفت(۴).

**بررسی اثر سیتوتوکسیسیتی فیکوسیانین و داروی پکلی تاکسل به وسیله آزمون MTT:**

این آزمون نوعی تست رنگی و کمی می باشد که اساس آن در ارتباط با احیا نمک زرد رنگ محلول در آب ۳-(۴-دی متیل تیازول-۲-ئیل)-۲-۵-دیفنیل ترازولیوم بروماید(MTT) و تشکیل کریستال های آبی-بنفش تیره و نا محلول فورمازان در آب می باشد. این بلورها در حلال های آلی مثل ایزوپروپانول قابل حل می-باشند که با سنجش جذب نوری آن می توان تعداد سلول‌های زنده را که توانایی سوخت و ساز دارند را محاسبه نمود. برای انجام تست در هر چاهک یک پلیت ۹۶ خانه ای مخصوص، ۱۰/۰۰۰ سلول کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت محلول رویی خارج و محیط کشت جدید به همراه فیکوسیانین با غلظت های مختلف۲۵۰، ۲۰۰، ۱۷۵،۱۵۰، ۱۲۵،۱۰۰، ۷۵،۵۰، ۲۵،۲۰،

۱۵،۱۰ میلی لیتر/میلی گرم در یک گروه و در گروهی دیگر مشابه همین غلظت ها با داروی پکلی تاکسل رقیق شده با محلول سدیم کلراید ۰/۹٪ تیمار شدند و برای ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. سپس محلول رویی خارج و محیط کشت به همراه رنگ MTT افزوده شد و برای چند ساعت در انکوباتور نگهداری و سپس محلول رویی با حلال ایزوپروپانول جایگزین و جذب نوری توسط دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر بر اساس شدت رنگ اندازه گیری گردید. در هر ردیف یک چاهک در کنار غلظت های مورد مطالعه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و درصد سلول های زنده با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد سلول‌های زنده نسبت به سلول‌های کنترل} = \frac{\text{جذب نوری سلول‌های تحت اثر عصاره در هر خانه} \times 100}{\text{میانگین جذب نوری خانه‌های حاوی سلول‌های کنترل}}$$

**تست چسبندگی:**

در پلیت های ۹۶ خانه سوسپانسیون سلولی به همراه غلظت های مورد استفاده در تست MTT از فیکوسیانین آنابنا و داروی پکلی تاکسل ریخته و در انکوباتور قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت محلول رویی خارج و ۵۰ میکرولیتر فرمالدهید ۴ ٪ در هر خانه جهت تثبیت سلول‌ها ریخته و بعد از ۵ دقیقه فرمالدئید تخلیه و با ۱۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله جایگزین گردید که بعد از گذشت چند دقیقه کریستال ویوله خارج و با PBS مورد شستشو قرار گرفت. سلول هایی که قدرت چسبندگی خود را از دست داده اند خارج می شوند.

**میکروسکوپ معکوس:**

این دستگاه دارای قابلیت فازکنتراست که عدسی شیئی، پایین محل قرار گیری نمونه قرار دارد. در المنتور عمودی نور از منبع که معمولا یک لامپ هالوژن ۱۲ ولت و ۱۰۰ یا ۵۰ وات است، حرکت می‌کند صفحه نمونه در میکروسکوپ وارونه همواره ثابت است و فوکوس آن با تنظیم عدسی‌ها با حرکت دادن عدسی‌های شیئی در امتداد محور عمودی انجام می‌شود تا عدسی‌ها به نمونه نزدیک یا دور شوند. مکانیسم فوکوس از طریق دو پیچ متحد المرکز انجام می‌شود تا تنظیم راحت و درست باشد. از این میکروسکوپ اغلب جهت بررسی نحوه حرکت، تولید مثل، شناسایی، شمارش زئو و فیتو پلانکتون ها و سایر میکروارگانیسم ها استفاده می گردد.

**آزمون های آماری:**

با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ، آنالیز واریانس یک طرفه، آزمون تعقیبی Tukey روی داده ها انجام گرفت و $P< ۰/۰۰۱$ معنی دار تلقی گردید.

## نتایج

**نتایج کشت سلولی 4T1:**

سلول های سرطانی 4T1 به صورت تک لایه در کف فلاسک های مخصوی کشت سلولی، تکثیر یافته و پس از پر کردن حجم کافی از فلاسک و شمارش سلولی، پاساژ داده شدند(شکل ۱).

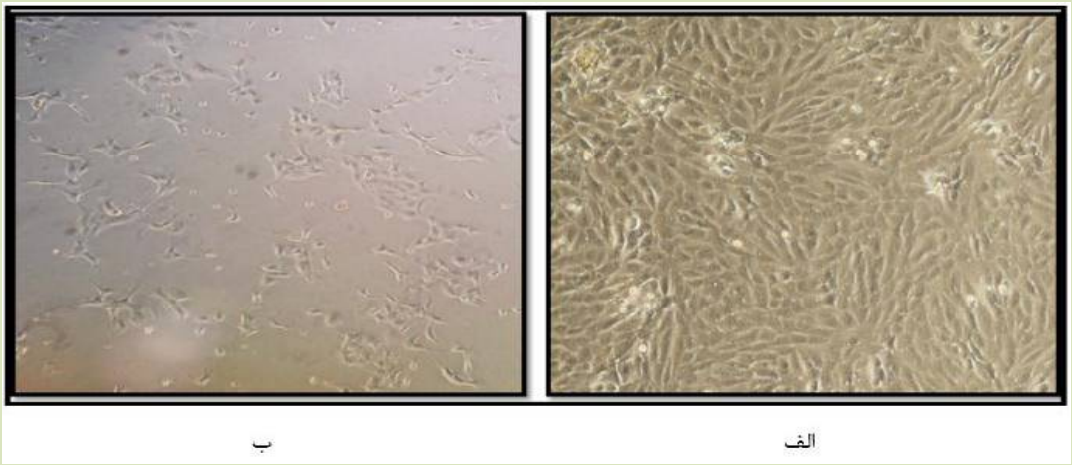
**بررسی تست تشکیل کلنی در آگار( Colony Forming Assay) سلول های 4T1:**

این سلول ها در شرایط درون آزمایشگاهی توانایی متاستاز بالایی داشته به طوری که کلنی های مربوط به رده سلولی 4T1 در روز ۱۲ مشاهده شدند(شکل ۲).

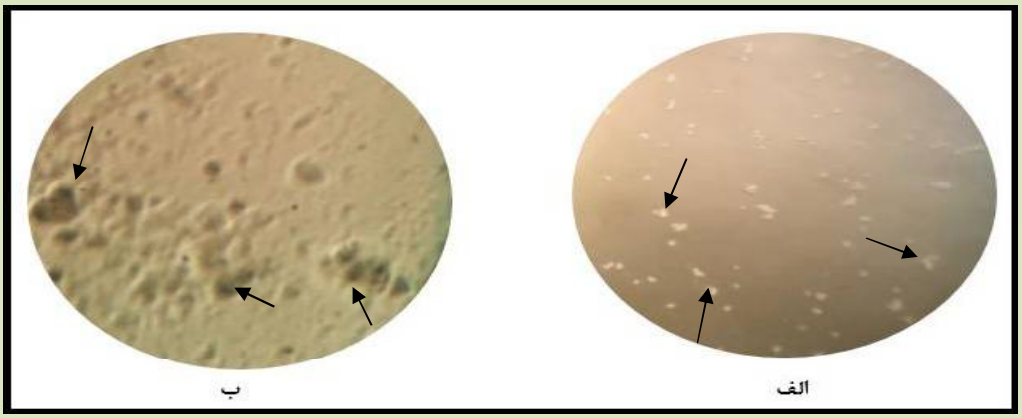
**اثر فیکوسیانین Anabaena sp. ISC 55 و داروی پکلی تاکسل بر مرگ سلولی:**

بر اساس مشاهدات سلولی با استفاده از میکروسکوپ معکوس، مشخص گردید که پس از ۲۴ ساعت فیکوسیانین در غلظت های ۱۵و۱۰ میلی لیتر/میلی گرم در مقایسه با گروه شاهد، اثری بر سلول ها نداشته است( شدت رنگ آبی-بنفش نشانگر حضور سلول های زنده می باشد). تاثیر غلظت های ۲۰، ۲۵،۵۰، ۷۵ میلی لیتر/میلی گرم بر مورفولوژی سلول ها اندک بود، اما در دوز های ۲۵۰، ۲۰۰، ۱۷۵، ۱۵۰، ۱۲۵، ۱۰۰ میلی لیتر/میلی گرم سلول ها دچار آپاپتوز شده و از بستر خود

کنده شده بودند و از حالت دوکی شکل به صورت گرد در آمده بودند و گرانولاسیون سلولی مشاهده شد( شکل۳). در حالی که مشاهدات ما در ارتباط با دوز های مشابه برای داروی پکلی تاکسل بیانگر آپاپتوز بسیار بالا در تمامی دوز ها بود(شکل۴).




**شکل ۱- تصویر بدست آمده از کشت سلول های سرطانی 4T1 با میکروسکوپ معکوس. الف: سلول های 4T1 در اوج تقسیم سلولی بزرگنمایی ۴۰۰ برابر ب: سلول های 4T1 پاساژ یافته بزرگنمایی ۴۰۰ برابر**

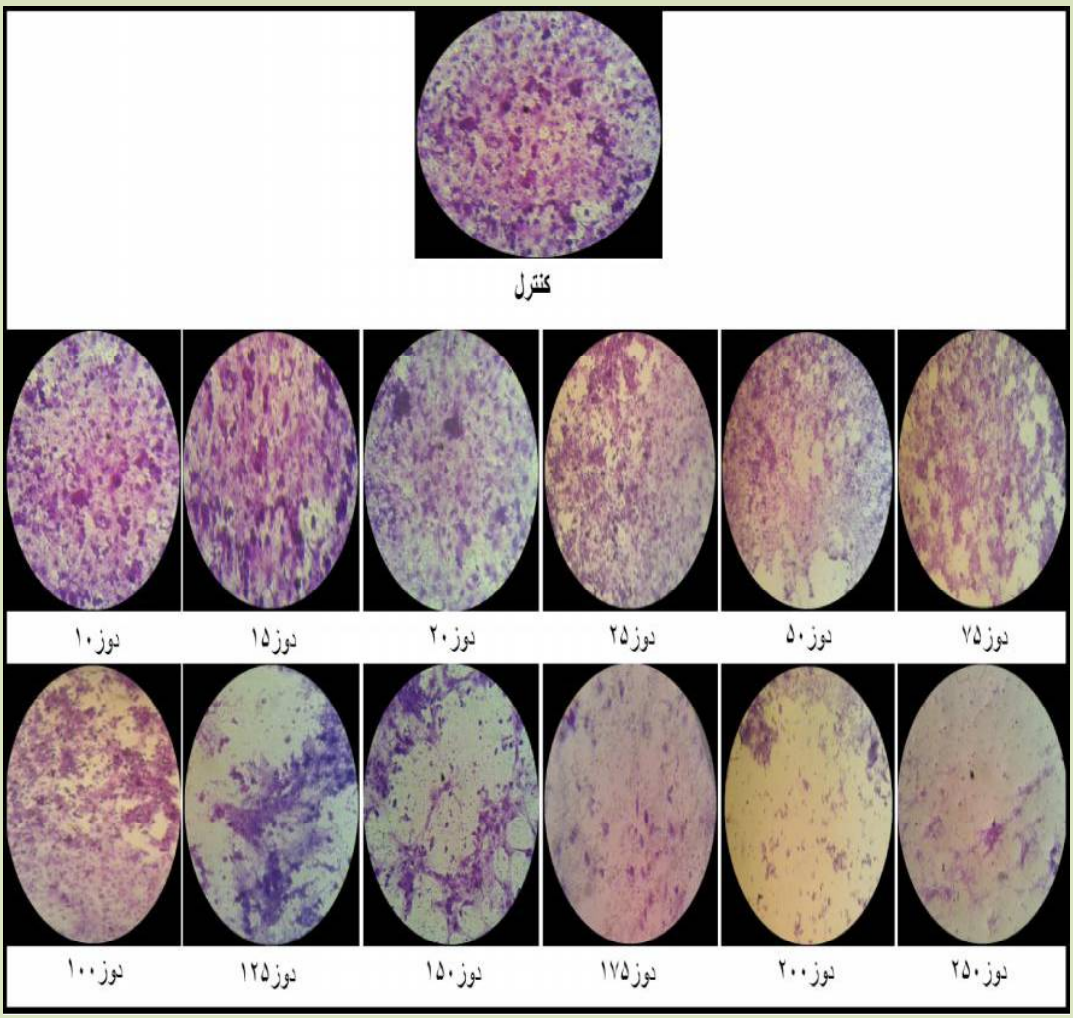



**شکل۲-تست تشکیل کلنی در آگار(Colony Forming Assay) سلول های 4T1 پس از ۱۲ روز. فلش ها نشان دهنده ی کلنی های تشکیل شده می باشند. الف:بزرگنمایی ۲۰۰ برابر، ب:بزرگنمایی ۴۰۰ برابر**

**نتایج آزمون MTT:**

جذب نوری ثبت شده از خانه های حاوی سلول هایی که در مجاورت فیکوسیانین و پکلی تاکسل در دوز های مشابه بودند، با جذب نوری خانه هایی که تحت تاثیر عصاره نبودند (خانه های شاهد) مقایسه گردید. آنالیز آماری نشان داد که در زمان انکوباسیون سلولی ۲۴ ساعته با پروتئین فیکوسیانین و داروی پکلی تاکسل، درصد مرگ سلول های سرطانی 4T1 تیمار شده با تمامی غلظت های داروی پکلی تاکسل نسبت به گروه شاهد دارای تغییرات آماری معنی داری می باشد در حالی که غلظت های ۱۵ و۱۰ میلی لیتری نسبت به گروه شاهد تغییرات آماری معنی داری نشان نمی دهند ولی غلظت-های ۲۰ تا ۲۵۰ میلی لیتری فیکوسیانین نسبت به گروه شاهد تغییرات معنی داری دارا می باشند. از طرفی فیکوسیانین نسبت به داروی پکلی تاکسل با افزایش دوز افزایش مرگ سلولی را در سلول های سرطانی نمایش

می دهد (نمودار۱).

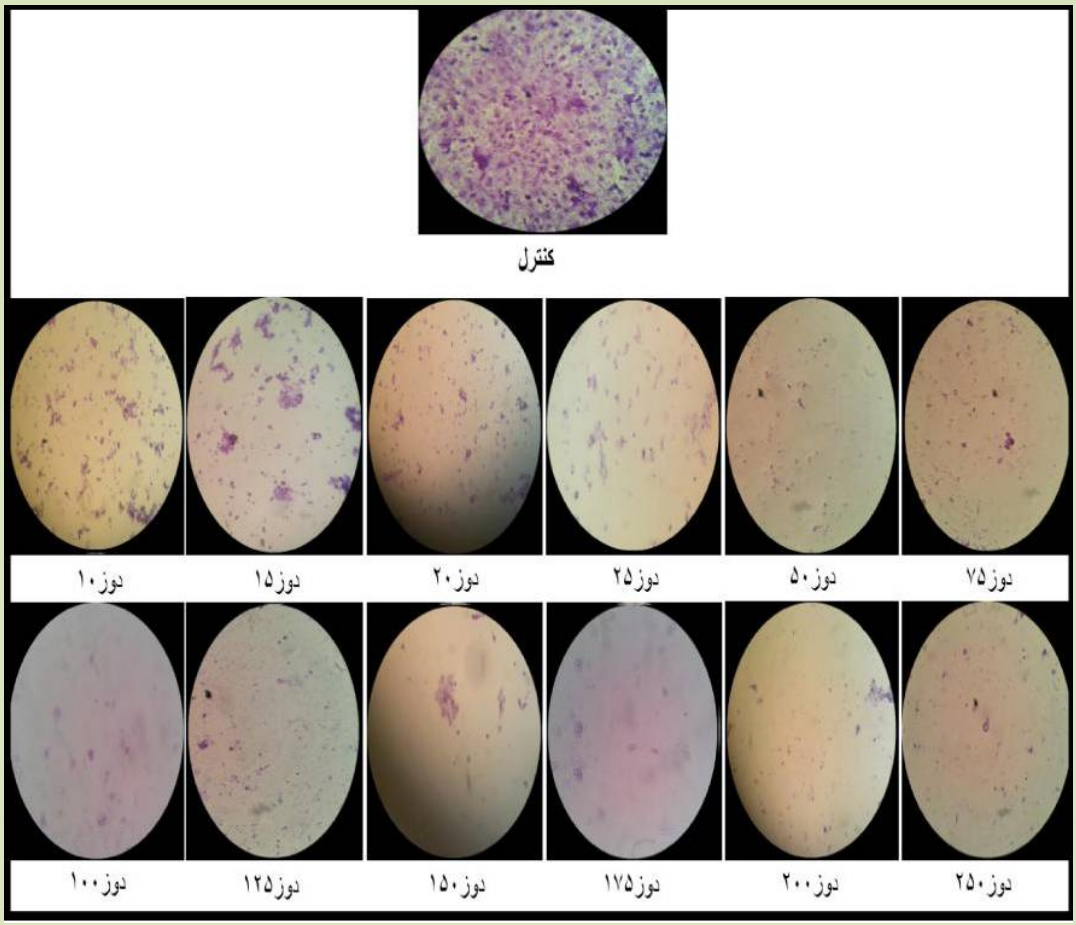



**شکل۳- تصاویر سلول های 4T1، ۲٤ ساعت پس از مجاورت با غلظت های مختلف از فیکوسیانین با میکروسکوپ معکوس( بزرگنمایی ۲۰۰ برابر).**

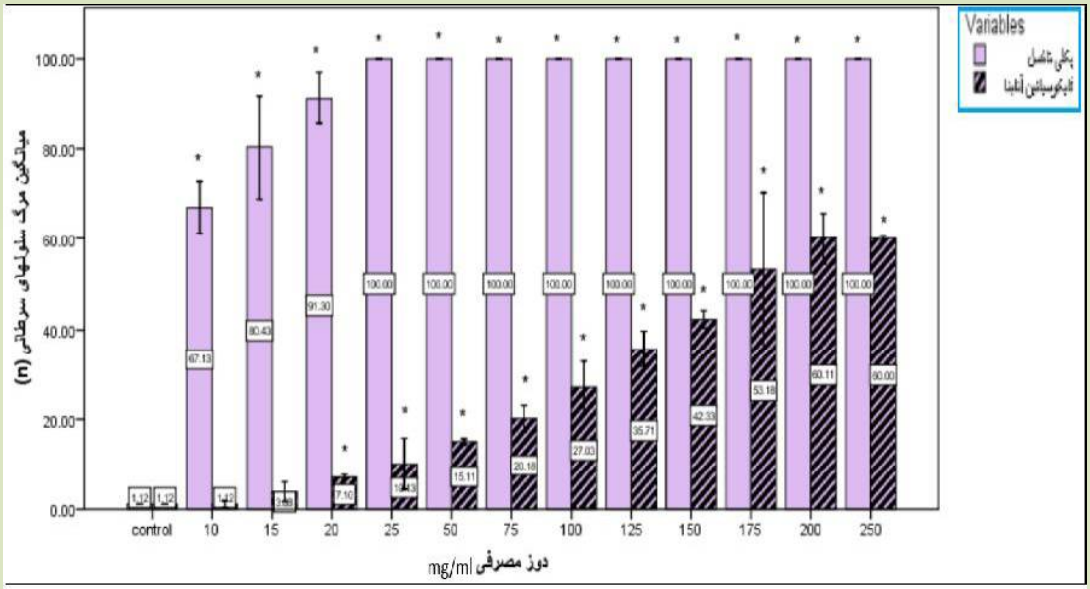
## بحث و نتیجه گیری

فیکوسیانین یکی از بیلی پروتئین های خاص در سیانوباکتری ها می باشد که در ارتباط با خواص ضد سرطانی اش مطالعات متعددی صورت گرفته است. در مطالعه حاضر برای اولین بار اثر ضد سرطانی فیکوسیانین حاصل از سیانوباکتری آنابنا بر رده ی سلول های سرطانی پستان 4T1 بررسی شد و یافته ها با نتایج حاصل از تاثیرات ضد توموری داروی پکلی تاکسل که امروزه به عنوان نوعی داروی تجاری و تخصصی در شیمی درمانی بیماران مبتلا به سرطان پستان می باشد، مقایسه گردید. نتایج حاصل از تست MTTاین مطالعه، نشان داد که این فیکوسیانین می تواند باعث کاهش توانایی زیستایی سلول‌های سرطانی پستان و متعاقباً القا آپاپتوز در این رده سلولی شود. در مطالعات گذشته توسط محققان تاثیرات ضد سرطانی فیکوسیانین در رده های سلولی متفاوت از انواع سرطان ها مورد بررسی قرار گرفته شده است. Wang و همکارانش در سال ۲۰۰۷، تاثیرات مهار کنندگی فیکوسیانین بر تکثیر سلول های سرطانی و نیز القا آپاپتوز در رده ی سلولی 686LN(رده سلولی سرطانی ناحیه سر و گردن) را بررسی کردند و مشاهده نمودند که فیکوسیانین از طریق ترویج دپلیمریزاسیون و

فعال کردن کاسپازها در مسیرهای بیرونی سیستم آپاپتوز، باعث مرگ سلول ها می شود(۳۰).




**شکل ٤- تصاویر سلول های 4T1، ٢٤ ساعت پس از مجاورت با غلظت های مختلف داروی پکلی تاکسل با میکروسکوپ معکوس( بزرگنمایی ۲۰۰ برابر)**




**نمودار ۱- نتایج آماری آزمون MTT در غلظت های مختلف فیکوسیانین *Anabaena* sp. ISC 55 و داروی پکلی تاکسل بر میانگین مرگ سلول های سرطانی 4T1 پس از ٢٤ ساعت.**

Guptaو همکارانش در سال ۲۰۱۲ در ارتباط با تاثیرات ضد سرطانی فیکوسیانین بر رده سلولی سرطان پوست ناشی از-12-O-tetradecanoyl-phorbol-13 acetate (TPA) مطالعاتی انجام دادند و مشاهده کردندکه فیکوسیانین علاوه بر القا آپاپتوز سلول های سرطانی، باعث مهار عوامل دخالت کننده در ایجاد تغییرات بیانی و مهاری ژن های سرطانی می شوند(۱۲).

در ارتباط با این تحقیقات، Subhashini و همکارانش در سال ۲۰۰۴ تاثیرات آپاپتوزی فیکوسیانین بر سلول‌های کشت داده شده ی K562(رده سلولی سرطانی لوکمیا میلوئیدی) مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاصل از پژوهش آن ها، نمایانگر تاثیرات ضد سرطانی فیکوسیانین به صورت اشکال آپاپتوزیس مانند انقباض غشا و تراکم هسته ای بود(۲۸ یکی از جدید ترین مطالعات انجام شده اخیراً از سوی Yogianti و همکاران در دپارتمان درماتولوژی دانشگاه کوب ژاپن بود، جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس می‌تواند موجب مهار سرطان‌زایی و پاسخ‌های التهابی ناشی از اشعه ی U.V.B شود که طبق نتایج این مطالعه، اسپیرولینا به دلیل خاصیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی خود از رشد تومورهای پوستی ناشی از اشعه U.V.B جلوگیری کرده و بروز سرطان پوست را مهار می‌کند. مهار فسفوریلاسیون برخی از پروتئین کینازها نشان می‌دهد که اسپیرولینا نواحی فعال دیگری نیز برای مهار سرطان پوست دارد(۳۲). Bing و همکارانش در سال ۲۰۱۰ تاثیرات ضد سرطانی فیکوسیانین را بر رده ی سلولی سرطانی پستان انسانی، نوع MCF-7 بررسی کردند و نتایج حاصل نشان دهنده‌ی تاثیرات ضد سرطانی فیکوسیانین با مهار تکثیر سلولی MCF-7، تغییرات فراساختاری از جمله از دست دادن میکروویلی،تراکم کروماتین و تغییرات غشایی بود(۸)، همگی اثبات کننده ی داشتن خواص ضد سرطانی بیلی-پروتئین فیکوسیانین بر رده های مختلف سرطانی می‌باشد.

در بررسی حاضر اثر سایتوتوکسیسیتی فیکوسیانین *Anabaena* sp. ISC 55 بر سلول های 4T1 با استفاده از تست MTT انجام گرفت همان طور که در نتایج مشاهده می شود با افزایش غلظت فیکوسیانین درصد مرگ سلول ها به صورت وابسته به دوز نیز افزایش یافت. پس از مقایسه ی نتایج حاصل به این نتیجه رسیدیم که فیکوسیانین در مقایسه با داروی پکلی تاکسل دارای خواص ضد سرطانی امیدوار کننده ای می باشد. به طور کلی یافته ها نشان داد که فیکوسیانین آنابنا sp. ISC 55 باعث کاهش توان زیستی سلول های سرطانی، القا آپاپتوز و تغییرات مورفولوژیکی در ساختار سلول ها می شود.

## منابع


**۱**–امیرپور اصل، ص.، نبیونی، م.، یزدانیان، ز.، رفوئی، م. ۱۳۹۴. اثرات ضد توموری ترکیب جدید تری آزنی:یک مطالعه آزمایشگاهی. فصلنامه علمی–پژوهشی ابن سینا،اداره بهداشت امداد و درمان نهاجا، سال۱۷، شماره۲.

**۲**–بشاش، د.، صفا، م.، شهبازی، ع.، محمدیان، م.، شاه محمد، ن. ۱۳۹۱. اثر آپاپتوتیک عصاره گیاه خارمریم بر روی سرطان سینه رده سلولی MCF-7. فصلنامه علمی–پژوهشی طب مکمل. دوره ۲. شماره۱.

**۳**–فرجی، د.، رضایی، ک.، کلانتری، م.،هاشمی روان، م. ۱۳۹۳. بهینه سازی شرایط مختلف(دما، تغییر شدت نور، روش های کشت(غیر مداوم و نیمه مداوم) و نوع منبع کربنی)برای تولید حداکثر فایکوسیانین توسط ریزجلبک اسپرولینا پلاتنسیس(*Arthrospira platensis*). علوم غذایی و تغذیه. سال دوازدهم. شماره ۱.

**٤**–محمدی یگانه، س.، پریان م، آزادمنش، ک.، عارفیان، الف. ۱۳۹۰. مدل سازی سرطان پستان متاستازی در موش BALB/c با استفاده از رده سلولی موشیو نشان دار نمودن

پایدار رده سلولی با وکتور لنتی ویروس. فصلنامه بیماری های پستان ایران. سال چهارم. شماره اول و دوم.

۵-نورشاهی، م.، بابایی، الف.، بیگدلی، م.، بیرامی، م. ۱۳۹۲. تأثیر شش هفته تمرین مقاومتی بر مقدار اندوستاتین بافت توموری در موش های مبتلا به سرطان سینه. نشریه علوم زیستی ورزش. دوره ۲. شماره۱۷. ص ۴۶-۲۷.

**6.**Baliga, M.S., Meleth, S., Katiyar, S.K. (2005). Growth inhibitory and antimetastatic effect of green tea polyphenols on metastasis-specific mouse mammary carcinoma 4T1 cells invitro and invivo systems. Clin Cancer Res, 11(5); 1918-27.

**7.**Bhat, V., Madyastha, K. (2000). C-phycocyanin: a potent peroxyl radical scavenger in vivo and in vitro. Biochem Biophys Res Commun, 275(1), 20-25.

**8.**Bing, L., Xianming, C.H., Meihua, G., Wuxiu, L. (2010). Apoptotic mechanism of MCF-7 breast cells in vivo and in vitro induced by photodynamic therapy with C-phycocyanin. Acta Biochim Biophys Sin, 80–89.

**9.**Chakdar, H., Pabbi, S. (2012). Extraction and purification of Phycoerythrin from *Anabaena variabilis*(CCC421). Phycologic Societ, India, Phykos, 42(1); 25 – 31.

**10.**DuPre, S.A., Redelman, D., Hunter, K.W.Jr. (2007). The mouse mammary carcinoma 4T1: characterization of the cellular landscape of primary tumors and metastatic tumor foci. Int J Exp Pathol, 88(5); 351-60.

**11.**Evans, W.C. (2002). Trease and Evans pharmacognosy. W.B.Saunders. Edinburgh, London, New York.

**12.**Gupta, N., Gupta, K. (2012). Effects of C-phycocyanin on the representative genes of tumor development in mouse skin exposed to 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate. Envir Toxicol Pharmacol, 3 (4); 941–948.

**13.**Hsiao-Wei, C., Tsung-Shi, Y., Mao-Jing, C.,Yu-Ching, C., Pei-Chun, L. (2014). Purification and immunomodulating activity of C-phycocyanin fromSpirulina platensis cultured using power plant flue gas. Process Biochem, 49; 1337–1344.

**14.**Kuddus, M., Singh, P., Thomas, G., Al-Hazimi, A. (2013). Recent developments in production and biotechnologicalapplications of c-phycocyanin. hindawi publishing corporation, biomed resinternation, Article ID 742859; 9 pages.

**15.**Kumar, V., Robbins, S., Cotran, R. (1999). Raobbins pathologic basis of disease. 6th ed.Philadelphia, Saunders, 1623-6.

**16.**Landino, L. M., Macdonald, T.L. (1995). The biochemical pharmacology of taxol and mechanisms of resistance. In The chemistry and Pharmacology of Taxol and its Derivatives. Ed. Farina, V. Amsterdam, Elsevier Science, 301-311

**17.**Li, B., Chu, X., Gao, M., Li, W. (2014). Apoptotic mechanism of MCF-7 breast cells in vivo and in vitro induced by photodynamic therapy with C-phycocyanin. Acta Biochim Biophys Sin, 42(1); 80-89.

**18.**Li, B., Gao, M.H., Zhang, X.C., Chu, X.M. (2006). Molecular immune mechanism of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* induces apoptosis in HeLa cells in vitro. Biotechnol Appl Biochem, 43(3); 155- 164.

**19.**Low, C. (1992). Ultrasound in synthesis: sonochemistry as a tool for organic chemistry. in: current trends in sonochemistry. Price JG, (ed). Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK. 59- 9

**20.**Murugan, T., Radhamad, H. (2011). Screening for antifungal and antiviral activity of C-phycocyanin from *Spirulina platensis*. J Pharm Res, 4(11); 4161- 4163.

**21.**Najdenski, H., Gigova, L., Iliev, I., Pilarski, P., Lukavský, J., Tsvetkova, I. (2013). Antibacterial and antifungal activity of selected microalgae and cyanobacteria. Int J Food Sci Technol, 48(7); 1533-1540.

**22.**Ou, Y., Lin, L., Yang, X., Pan, Q., Cheng, X. (2013). Antidiabetic potential of phycocyanin: Effects on KKAy mice. Pharm Biol, 51(5); 539-544.

**23.**Parsa, N. (2012). Cellular and molecular basis of cancer in human. J Cell Tissue (JCT), 2(4); 376-365.

**24.**Pranay, P., Pankaj, N., Mallisk, S., Biswas, Varma, M.C. (2010). Isolation and purification of c-phycocyanin from nostoc muscorum (cyanophyceae and cyanobacteria) exhibits antimalarial activity in vitro. An International Quarterly J Life Sci, 1; 69-78.

**25.**Pulaski, B.A., Ostrand-Rosenberg, S. (2001). Mouse 4T1 breast tumor model. Curr Protoc Immunol. Chapter 20(20), Unit 202.

**26.**Roy, K.R., Arunasree, K.M., Reddy, N.P., Dheeraj, B., Reddy, G.V., Reddanna, P. (2007) Alteration of mitochondrial membrane potential by *Spirulina platensis* Cphycocyanin induces apoptosis in the doxorubicinresistant human

hepatocellular-carcinoma cell line HepG2. Biotechnol Appl Biochem, 47(3); 159-167.

**27.**Sarada, D., Kumar, S.C., Rengasamy, R. (2011). Purified cphycocyanin from spirulina platensis (nordstedt) geitler: a novel and potent agent against drug resistant bacteria. World J Microbiol Biotechnol, 27(4); 779-783.

**28.**Subhashini, J., Mahipal, S., Reddy, M. (2004). Mallikarjuna Reddy M, Rachamallu A, Reddanna P. Molecular mechanisms in C-Phycocyanin induced apoptosis inhuman chronic myeloid leukemia cell line-K562. Biochemic Pharmacol, 68; 453–462.

**29.**Sun, B., Ranganathan, B., Feng, S.S. (2007) Multifunctional poly (D, L-lactide-co-glycolide)/montmorillonite (PLGA/MMT) nanoparticles decorated by Trastuzumab for targeted chemotherapy of breast cancer. Biomaterials, 29(4); 475-86.

**30.**Wang, H., Liu, Y., Gao, X., Carter, C.h., Liu, Z. (2007). The recombinant b subunit of C-phycocyanin inhibits cell proliferation and induces apoptosis. Cancer Letters, 247;150–158.

**31.**Wang, H. (2008). The C-Phycocyanin/beta protein inhibits cancer cell proliferation. Biology Theses, Department of Biology, Georgia State University, 4-22.

**32.**Yogianti, F., Kunisada, M., Nakano, E., Nakabeppu, Y., Nishigori, C. (2014). Inhibitory effects of dietary Spirulina platensis on UVB-induced skin inflammatory responses and carcinogenesis. J Invest Dermatol, 134(10); 2610-9

.