مقاله پژوهشی

اثرات سایتوتوکسیسیتی و پروآپوپتوزی عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر رده سلولی آدنوکارسینومای پستان انسان (SKBR-3)

نویسندگان:

الهام اکبریان دهکردی[1]، لیلا روحی[1*]، حسین سازگار[1]، خلیل خاشعی ورنامخواستی[2،1]

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲- گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی کازرون، کازرون، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.19, No.3, Fall 2021

چکیده:

مقدمه: سرطان پستان به عنوان یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در بین زنان شناخته شده است. با توجه به درصد بالای مرگ و میر به علت تشدید بیماری، استفاده از روش‌ها و داروهای جدیدتر برای مبتلایان بسیار ضروری است. ریز جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* با داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات فراسودمند در درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان کاربرد دارد. از این رو در پژوهش حاضر اثرات سایتوتوکسیسیتی و پروآپوپتوزی عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر سلول‌های آدنوکارسینومای پستان ارزیابی شد.

روش‌کار: در این مطالعه تجربی، با تیمار سلول‌های سرطانی پستان رده SKBR-3 در چهار گروه آزمایشی با غلظت‌های ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر از عصاره *اسپیرولینا* و انکوباسیون در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت، میزان سایتوتوکسیسیتی با روش MTS و میزان القا آپوپتوز با کیت آنکسین- پروپیدیوم یدید (Annexin-PI) طبق دستورالعمل کیت در هر دو زمان انکوباسیون مورد بررسی قرار گرفت. تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸، نرم افزار *FlowJo* و آزمون تحلیل واریانس و آزمون تعقیبی دانکن انجام شد.

یافته‌ها: نتایج آزمایش MTS کاهش توان‌زیستی سلول‌ها در زمان انکوباسیون ۴۸ ساعته را برخلاف تیمار ۲۴ ساعته در سایر گروه‌های آزمایشی نشان داد. این کاهش در غلظت‌های ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر عصاره *اسپیرولینا* نسبت به گروه کنترل معنادار بود (P= ۰/۰۴۴). القای آپوپتوز در هر دو زمان انکوباسیون ۲۴ ساعته (P= ۰/۰۳۶) و ۴۸ ساعته (P= ۰/۰۳۲) در سایر گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشت.

نتیجه‌گیری: عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* می‌تواند به عنوان منبعی برای تولید داروهای ضد سرطان پستان به کار رود.

واژگان کلیدی: *اسپیرولینا پلاتنسیس*، سایتوتوکسیسیتی، آپوپتوز، آدنوکارسینومای پستان، رده سلولی، SKBR-3

Pars J Med Sci 2021;19(3):1-8

مقدمه:

سرطان پستان، حاصل رشد خارج از کنترل سلول‌های اپی‌تلیال مجاری و لبول‌های بافت پستان [۱]، شایع‌ترین بیماری بدخیم و دومین عامل مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در زنان بعد از سرطان ریه در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه می‌باشد [۴-۲]. تخمین زده شده است که شیوع سرطان پستان از دو میلیون بیمار در سال ۲۰۱۸ به بیش از سه میلیون بیمار در سال ۲۰۴۶ افزایش یابد که نشان دهنده افزایش ۴۶ درصدی است [۵]. براساس آمارهای موجود در ایران از هر ۱۰ تا ۱۵زن ایرانی یک نفر احتمال دارد به سرطان پستان مبتلا شود [۶]. افزایش استعمال دخانیات، الکل، چاقی و از طرف دیگر تاخیر در فرزند آوری و کاهش تغذیه با شیر مادر زمینه را برای بروز سرطان پستان افزایش داده است. ابتلای بیش از ۴۰ درصد از مبتلایان در سنین ۴۰- ۵۰ سال بوده است که در ایران سن بروز آن حداقل یک دهه کمتر از کشورهای توسعه یافته گزارش شده است [۹-۷]. امروزه روش‌های متعددی در درمان تومورها به کار گرفته می‌شوند که با توجه به عوارض جانبی شان دارای مشکلات عدیده‌ای نیز هستند [۱۰] بر این

* نویسنده مسئول، نشانی: ۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران .

تلفن تماس: ۰۹۱۲۶۰۴۳۳۰۵ پست الکترونیک: lrouhi59@gmail.com

دریافت:۱۴۰۰/۰۳/۰۵ اصلاح: ۱۴۰۰/۰۵/۲۰ پذیرش:20/06/1400

اساس، پژوهشگران همیشه در صدد یافتن ترکیباتی با خواص ضد توموری بوده‌اند که توانایی جلوگیری از گسترش و رشد سلول‌های سرطانی را داشته باشند. در این میان، آبزیان دریائی به واسطه خواص تغذیه‌ای و دارویی آن‌ها همواره مورد توجه قرار داشته‌اند [۱۱]. جلبک سبز- آبی *اسپیرولینا* یکی از مهم‌ترین این آبزیان است که از سوی پژوهشگران علوم تغذیه به آن اشاره شده است و کشفیات زیادی در خصوص خواص تغذیه‌ای و دارویی آن وجود دارد. این جلبک رشته‌ای، متعلق به خانواده‌ی سیانوباکترها دارای فیلامنت‌های فنرمانند، فتوسنتزکننده و بسیار کوچک است که دو جنس آرتروواسپریا و *پلاتنسیس* آن مهم‌ترین *اسپیرولینا*های خوراکی به حساب می‌آیند و به طور تجاری در سرتاسر جهان تولید می‌شوند [۱۲،۱۳]. *اسپیرولینا* به دلیل داشتن اجزا و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی همچون فایکوسیانین، سلنیوم، کارتنوئیدها، اسید چرب گامالینولنیک عامل دارویی بالقوه‌ای برای بیماری‌های القاء شده به وسیله تنش اکسیداسیونی از قبیل سرطان می‌باشد. هم اکنون *اسپیرولینا* از سوی سازمان بهداشت جهانی به عنوان یک گزینه درمانی بالقوه در درمان سرطان اعلام شده و فرصت‌های جدیدی برای تولید محصولات دارویی فراسودمند از آن فراهم شده است [۱۱]. به عنوان مثال در سال ۲۰۰۹ در پژوهشی با هدف بررسی اثر *اسپیرولینا پلاتنسیس* به عنوان مکمل غذایی در مبتلایان به سرطان کبد نشان داده شده که استفاده از این مکمل شکل‌گیری تومور را به طور قابل توجهی از ۸۰ به ۲۰ درصد کاهش می‌دهد [۱۴]. در سال ۲۰۱۴ نیز در مطالعه‌ای که به بررسی اثر ضد سرطانی *اسپیرولینا* بر سلول‌های سرطانی پانکراس پرداخته شده، اثرات ضد تکثیری و مهاری رشد Invitro و Invivoآن در دوزهای تجویزی متفاوت گزارش شده است [۱۵]. همچنین در سال ۲۰۱۷ با بررسی اثر عصاره جلبک سبز- آبی *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر سلول‌های سرطانی روده بزرگ (رده Caco-2) نشان داده شد که عصاره فیلتر شده *اسپیرولینا پلاتنسیس* باعث اعمال قوی‌ترین اثرات ضد تکثیری و بیشترین وقوع آپوپتوز در سلول‌های رده Caco-2 می‌شود، از این رو این جلبک می‌تواند به عنوان یک عامل با خواص ضد سرطانی برای پیشگیری و درمان سرطان روده بزرگ استفاده شود [۱۶]. در راستای انجام پژوهش های هر چه بیشتر برای تایید اثرات ضد سرطانی *اسپیرولینا*، در مطالعه حاضر نیز اثرات سایتوتوکسیسیتی و پروآپوپتوزی عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر رده سلولی SKBR-3 آدنوکارسینومای پستان مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار:

این مطالعه به صورت تجربی در نیم سال اول سال ۱۳۹۶ در مرکز تحقیقات سلولی- تکوینی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و آزمایشگاه مرکزی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. رده سلولی SKBR-3 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران خریداری و در محیط کشت Gibco,) (Dulbecco's Modified Eagle's medium) DMEM Gibco,) (Foetal Bovine Serum) FBS حاوی ۱۰ درصد (USA (Penicillin-Streptomycin) Penstrep و یک درصد (Gibco, USA) در انکوباتور (Memmert, Germany) با فشار ۵ درصد گاز CO2، رطوبت ۹۰ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در فلاسک ۷۵ کشت داده شد. محیط کشت هفته‌ای سه بار تعویض و برای برداشت سلول‌ها از محلول تریپسین / EDTA استفاده شد. *اسپیرولینا پلاتنسیس* به صورت آماده و به حالت جامد از شرکت دانش پژوهان قشم با نام تجاری *اسپیرولینا* (سوپر فود) تهیه شد. برای تهیه عصاره از این ماده در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، پودر *اسپیرولینا* درون فالکون ریخته شد و حلال اتانولی به آن اضافه و اقدام به عصاره گیری شد. عمل عصاره‌گیری سه بار تکرار و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. توان زیستی سلول‌های رده SKBR-3 تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* به روش MTS، با استفاده از کیت MTS (Promega,USA) با شماره محصول G5421 مورد ارزیابی قرار گرفت. به این ترتیب که تعداد ۵×۱۰۳ سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ چاهکی کشت داه شد و سپس در چهار گروه آزمایشی با غلظت‌های ۴۰۰ (گروه I)، ۲۰۰ (گروه II)، ۱۰۰ (گروه III) و ۵۰ (گروه IV) میکروگرم/ میلی‌لیتر عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* و گروه کنترل (در معرض محیط کشت) برای مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار و انکوبه شد. پس از اتمام زمان انکوباسیون، محیط رویی تیمار جمع آوری شد و مقدار۲۰ میکرولیتر محلول MTS به هر چاهک اضافه و انکوباسیون ۴ ساعته انجام شد. در نهایت، جذب نمونه‌ها توسط دستگاه ELISA- reader (Biotek,USA) با طول موج ۴۹۲ نانومتر خوانش شد. القاء آپوپتوز در رده سلولی SKBR-3، از طریق آزمایش Annexin V-FITC/PI با استفاده از کیت FITC Annexin V Apoptosis Detection kit (BD Pharmingen, USA)، با شماره محصول ۵۵۶۵۴۷ مورد ارزیابی قرار گرفت. به این ترتیب که تعداد 5×105 سلول در پلیت‌های کشت ۶ خانه کشت داده شد و سپس با غلظت‌های ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت تحت تیمار قرار گرفت. پس از اتمام زمان انکوباسیون، محیط رویی تیمار جمع‌آوری شد. پس از ترپسینه کردن، رسوب سلولی دو بار با محلول PBS (-Phosphate buffered saline)، (SIGMA-ALDRICH, USA)، سرد شستشو شد. سپس مقدار ۳۰۰ میکرولیتر بافر به سلول‌ها اضافه شد و

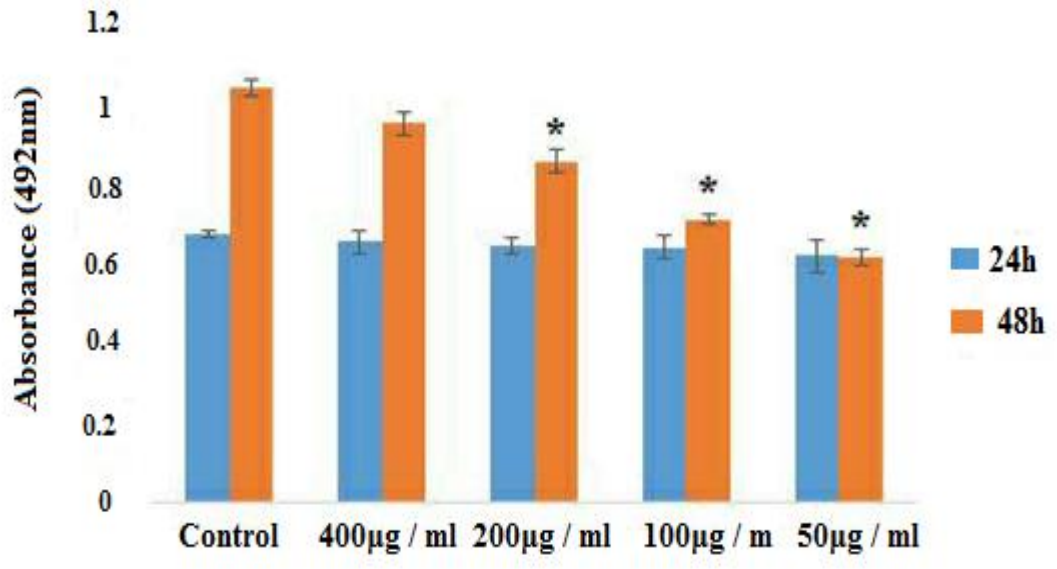
سوسپانس سلول و بافر به لوله‌های مخصوص فلوسیتومتری انتقال یافت. با اضافه کردن ۵ میکرولیتر Annexin و PI به لوله‌ها و به رساندن حجم آن ها با بافر به مقدار ۲۰۰ میکرولیتر برای سایر لوله‌ها و ۵۰۰ میکرولیتر برای لوله‌های کنترل، لوله‌ها به محیط تاریک و در دمای اتاق ظرف مدت زمان ۲۰ دقیقه انتقال داده شدند. پس از گذشت مدت زمان معلوم از دستگاه فلوسیتومتری (BD Facscalibur, USA) برای خوانش نتایج استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف– اسمیرنوف در نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ تایید شد. سپس با استفاده از آزمون تحلیل واریانس‌ها و آزمون تعقیبی دانکن تحلیل انجام شد. حدود اطمینان برای همه آزمون ها ۹۵٪ در نظر گرفته شد و P <۰/۰۵ معنادار محسوب شد.

یافته‌ها:

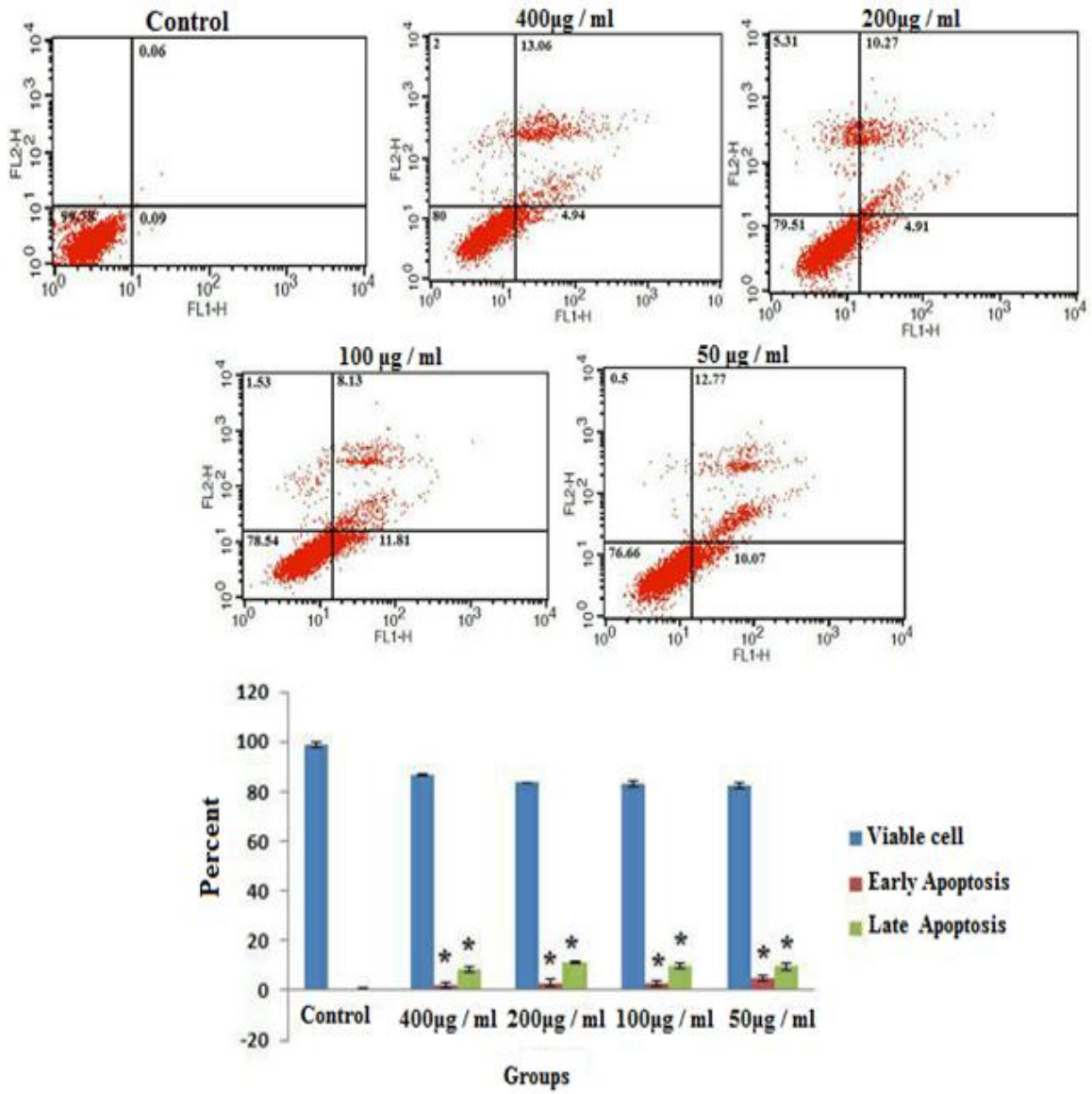
نتایج آزمایش MTS حاکی از عدم کاهش معنادار توان زیستی سلول‌های رده آدنوکارسینومای پستان انسان (SKBR-3)، تحت تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* در سایر گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل طی زمان انکوباسیون ۲۴ ساعته است (P= ۰/۰۶۳). این در حالی است که توان زیستی سلول‌ها در زمان انکوباسیون ۴۸ ساعته در سایر گروه‌های تحت تیمار کاهش یافته است. این کاهش در گروه‌های آزمایشی II، III و IV که سلول‌ها تحت تیمار با غلظت‌های۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میکروگرم/ میلی لیتر از عصاره‌ی *اسپیرولینا* بوده‌اند نسبت به گروه کنترل معنادار بود (P= ۰/۰۴۴) (شکل ۱).

همچنین تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر وقوع آپوپتوز در رده سلولی SKBR-3 اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که در تیمار ۲۴ ساعته، درصد سلول‌هایی که در مراحل اولیه آپوپتوز هستند از ۰/۰۹ درصد در گروه کنترل به بیشترین مقدار یعنی ۱۱/۸۱درصد در غلظت ۱۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر رسیده‌اند که این افزایش درصد آپوپتوز در دیگر غلظت‌ها نیز نسبت به گروه کنترل معنادار است. درصد سلول‌هایی که در مراحل انتهایی آپوپتوز هستند نیز از ۰/۰۶ درصد در گروه کنترل به بیشترین مقدار یعنی ۱۳/۰۶درصد در غلظت ۴۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر رسیده که این افزایش درصد آپوپتوز در سایر غلظت‌های دیگر نیز نسبت به گروه کنترل معنادار است (P= ۰/۰۳۶) (شکل ۲).

در تیمار ۴۸ ساعته نیز درصد سلول‌هایی که در مراحل اولیه آپوپتوز هستند از ۰/۴۴ درصد در گروه کنترل به بیشترین مقدار یعنی ۴/۹۴ درصد در غلظت ۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر رسیده‌اند که این افزایش درصد آپوپتوز در دیگر غلظت‌ها نیز نسبت به گروه کنترل معنادار است. به طور مشابه در غلظت ۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر نیز درصد سلول‌هایی که در مراحل انتهایی آپوپتوز هستند به بیشترین مقدار یعنی ۱۳/۰۶رسیده است که این افزایش درصد آپوپتوز در سایر غلظت‌های دیگر نیز نسبت به گروه کنترل معنادار می‌باشد (P= ۰/۰۳۲) (شکل ۳).

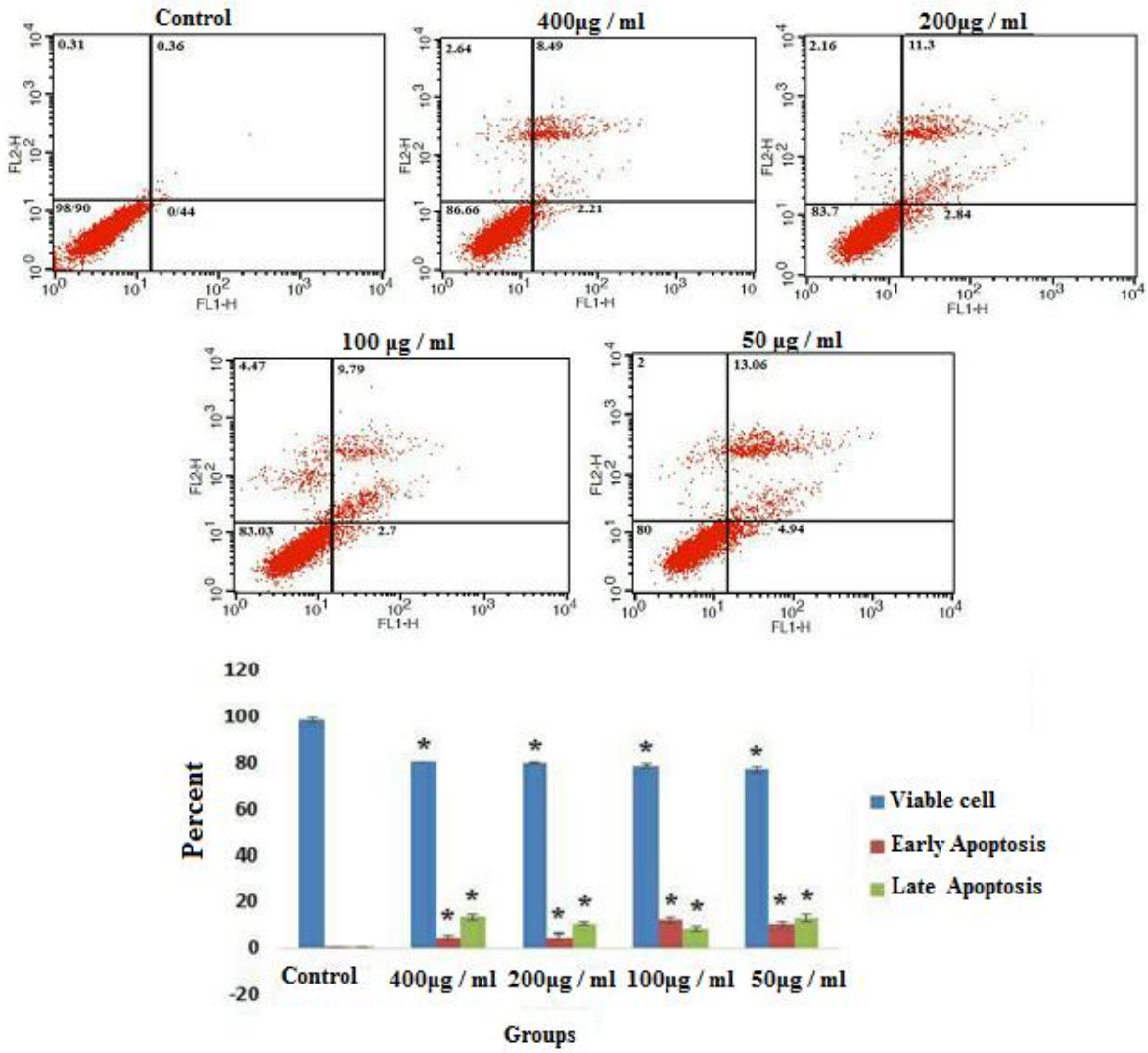


شکل۱: اثر عصاره‌ی *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر توان زیستی رده سلولی SKBR-3 در مدت زمان انکوباسیون ۲۴ و ۴۸ ساعت.
علامت(*) نشان‌دهنده‌ی معنادار بودن در سطح P <۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل است.



شکل ۲: درصد سلول‌های زنده، آپوپتوز اولیه و آپوپتوز انتهایی در سلول‌های SKBR-3 تحت تیمار با غلظت‌های ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* به مدت ۲۴ ساعت.

علامت(*) نشان‌دهنده معنادار بودن در سطح $P < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل است.



شکل ۳: درصد سلول‌های زنده، آپوپتوز اولیه و آپوپتوز انتهایی در سلول‌های SKBR-3 تحت تیمار با غلظت‌های ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* به مدت ۴۸ ساعت.

علامت(*) نشان‌دهنده‌ی معنادار بودن در سطح P <۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل است.

بحث:

اسپیرولینا پلاتنسیس غیرسمی و چربی‌های آن به صورت اسید چرب غیر اشباع است و در نتیجه فاقد کلسترول است. این ماده با داشتن حدود ۵۰–۷۰ درصد پروتئین، تقریباً بالاترین و بهترین مقدار پروتئین را در بین تمامی منابع (چه حیوانی و چه گیاهی) دارا می‌باشد. ضمن آن که طیف اسیدهای آمینه آن نشان دهنده بالا بودن ارزش بیولوژیکی پروتئین‌های اسپیرولینا است. به علاوه، *اسپیرولینا پلاتنسیس* محتوی مواد معدنی میکرو و ماکرو، ویتامین‌ها (به ویژه B12)، فیبر، گالاکتولیپید، سولفولیپید، رنگ دانه‌های آنتی‌اکسیدانی، اسیدهای نوکلئیک، کلروفیل (بهترین سم‌زدای بدن)، آنزیم‌های قابل جذب و پلی ساکاریدها است که این بدین معنا است که آن دربردارنده مجموعه‌ی وسیعی از تمامی ترکیبات مورد نیاز بدن انسان است، از این رو، توجه سراسر دنیا به این موضوع جلب شده است که از *اسپیرولینا پلاتنسیس* در تولید غذای انسان و تهیه دارو استفاده شود [۱۷]. در پژوهش حاضر نیز توانایی عصاره جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* در مهار رشد و خاصیت ضد تکثیری آن که از طریق القاء مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی اعمال می‌شود، در سلول‌های رده آدنوکارسینومای پستان انسان (SK-BR3) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که عصاره جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* قادر است رشد سلول‌های رده SK-BR3 را در غلظت مشخص مهار کند و کاهش معناداری در توان زیستی آن ها نسبت به گروه کنترل ایجاد کند. بر اساس نتایج به دست آمده می‌توان گفت که عصاره جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* بیشترین اثر مهاری خود را بر رشد سلول‌ها در غلظت ۵۰ میکروگرم/ میلی لیتر در زمان انکوباسیون ۴۸ ساعته داشته

است. به طور مشابه، در سال ۲۰۱۷ اثر سایتوتوکسیک عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر سلول‌های لوکمی رده K-562 توسط هرناندز و همکارانش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه خاصیت سایتوتوکیستی عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر رده K-562 را تایید کرد [۱۸]. سزارونکا و همکارانش نیز در سال ۲۰۱۸ اثر ضدسرطانی عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* را بر سلول‌های سرطانی ریه، رده A549 مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل عملکرد ضد سرطانی عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* را علیه این سلول‌ها نشان داد [۱۹]. همچنین فیاض و همکاران در سال ۲۰۱۹ اثر سایتوتوکسیک عصاره متانولی *اسپیرولینا پلاتنسیس* را بر رده‌های L20B و MCF7 مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاکی از حضور یازده جز سایتوتوکسیک در عصاره علیه رده‌های L20B و MCF7 بود (۲۰). ارزیابی In vitro اثر ضد سرطانی متابولیت‌های *اسپیرولینا پلاتنسیس* علیه کارسینومای هپاتوسلولار در سال ۲۰۲۰ نشان داد که اجزاء آلکالوئیدی و فنولی *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر کارسینومای هپاتوسلولار موثر واقع می‌شوند [۲۱]. نتایج مطالعه دیگری در سال ۲۰۲۰ نیز اثر ضد تکثیری عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* را علیه رده سلولی سرطان کلون تایید کرد [۲۲]. همچنین تیمار رده سلولی SK-BR-3 با غلظت‌های مختلف عصاره جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* (۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) و انکوباسیون آن ها برای مدت زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت افزایش قابل توجهی را در میزان وقوع آپوپتوز در رده سلولی SK-BR-3 نشان داد. مطالعه ای در سال ۲۰۱۹ افزایش وقوع آپوپتوز را در تومورهای توپر موشی تحت تیمار با *اسپیرولینا* گزارش کرده است [۲۳]. همچنین نتایج مطالعه دیگری در سال ۲۰۲۰ بیانگر خاصیت ضد سرطانی جزء فیکوسیانین از طریق القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی رده T47D پستان بوده است [۲۴]. به طور کلی می‌توان از داده حاصل از دو مطالعه حاضر نتیجه گرفت که احتمالاً عصاره جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* دارای بیشترین قدرت مهاری بر رشد و تکثیر سلول‌های آدنوکارسینومای پستان انسان در غلظت ۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر و زمان انکوباسیون ۴۸ ساعته می‌باشد.

نتیجه‌گیری:

عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* در شرایط In vitro در غلظت‌های مشخصی باعث کاهش رشد سلولی و افزایش القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پستان رده‌ی SKBR-3 می‌شود. شواهد نشان می‌دهد که جلبک سبز *اسپیرولینا پلاتنسیس* می‌تواند به عنوان منبعی برای تولید داروهای ضد سرطان علیه بدخیمی پستان به کار رود. در این مطالعه به دلیل محدودیت در جمع‌آوری نمونه‌های بیوپسی بافتی بررسی تنها در سطح سلول صورت گرفته است. سایر پژوهشگران می‌توانند اثر عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* را در مدل حیوانی موشی و در سطح بافت روی نمونه‌های بیوپسی پستان نیز سنجش کنند.

تشکر و قدردانی:

این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد تحت عنوان بررسی اثرات سایتوتوکسیسیتی و پروآپوپتوزی عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر رده سلولی SKBR-3 آدنوکارسینومای پستان، مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد در سال ۱۳۹۷ با کد اخلاق IR.IAU.SHK.REC.1397.028 است.

تضاد در منافع:

نویسندگان هیچ گونه تضاد در منافع را اعلام نکرده‌اند.

References:

1. Jordan VC, Fan P, Abderrahman B, Maximov PY, Hawsawi YM, Bhattacharya P, et al. Sex steroid induced apoptosis as a rational strategy to treat anti-hormone resistant breast and prostate cancer. Discov Med 2016; 21(117): 411-27.
2. Ghaderi I, Kaviani A, Fakhrejahani E, Mehrdad N, Hazar N, Karbakhsh M. Religious, Cultural, and Social Beliefs of Iranian Rural Women about Breast Cancer: A Qualitative Study. Archives of Breast Cancer 2014; 1(1):25-31. [*Persian*]
3. Kalan FarmanFarma K, Zareban I, Jalili Z, Lotfi B. The Effect of Education on Condition of Knowledge, Attitude and Preventive Behaviors of Breast Cancer in Female Teachers at Guidance Schools in Zahedan. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences 2013; 1(3):65-73. [*Persian*]
4. Mazloomy S, Khodayarian M. Knowledge and attitudes about the treatment of breast cancer screening in women Yazd of 2012. Iranian Journal of Breast Diseases 2014; 6(4):41-51. [*Persian*]
5. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. CA: A Cancer Journal for Clinicians 2019; 69(1):7-34.
6. Heidarirad F, Yarahmadi M, Heidarirad H, Shafiei M. [Evaluation of prevalence of depression and its related factors among women with breast cancer referred to the radiotherapy center of Tawhid Hospital of Sanandaj, Iran in 2017 (Persian)]. Scientific Journal of

Nursing, Midwifery and Paramedical Faculty 2018; 4(2):39-49. [*Persian*]
7. Porter P. "Westernizing" women's risks? Breast cancer in lower-income countries. The New England Journal of Medicine 2008; 358(3):213-6.
8. Anyanwu SN. Temporal trends in breast cancer presentation in the third world. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research 2008; 27:17.
9. Isfahani P, Hossieni Zare S. M, Shamsaii M. The Prevalence of Depression in Iranian Women With Breast Cancer: A Meta-Analysis. The Horizon of Medical Sciences 2020; 26(2): 170-181. [*Persian*]
10. Iwamoto T. Clinical application of drug delivery systems in cancer chemotherapy: review of the efficacy and side effects of approved drugs. Biological and Pharmaceutical Bulletin 2013; 36(5): 715-718.
11. Romanos M, Andrada MJ. Inhibitory effect of extracts of Brazilian marine algae on human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-induced syncytium formation in vitro. Cancer investigation 2002; 20(1): 54-6.
12. Todd L. A review of spirulina as a carotenoid and vitamin source for cultured shrimp. Spirulina Pacifica Technical Bulletin 2000; 50: 8.
13. Karkos PD, Leong SC. Review of spirulina in clinical practice: Evidence-Based human applications. CAM Advance Access 2008; 14: 1-4.
14. Ismail MF, Ali DA. Chemoprevention of rat liver toxicity and carcinogenesis by Spirulina. International journal of biological sciences 2009; 5(4): 377-87.
15. Konickova R, Vankova K. Anti-cancer effects of blue-green alga Spirulina platensis, a natural source of bilirubin-like tetrapyrrolic compounds. Annals of hepatology 2014; 13(2): 273-83.
16. Smieszek A, Giezek E. The Influence of Spirulina platensis Filtrates on Caco-2 Proliferative Activity and Expression of Apoptosis-Related microRNAs and mRNA. Marine drugs 2017; 15(3): 65.
17. Habib M.A.B, Parvin M. A Review on Culture, Production and Use of Spirulina as Food for Humans and Feeds for Domestic Animals and Fish. FAO Fisheries and Aquaculture Circular 2008; 1034: 33.
18. Hernandez F. Y. F, Khandual S, López I. G. R. Cytotoxic effect of Spirulina platensis extracts on human acute leukemia Kasumi-1 and chronic myelogenous leukemia K-562 cell lines. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2017; 7(1): 14-19.
19. Czerwonka A, Kaławaj K, Sławińska-Brych A, Lemieszek M. K, Bartnik M, Wojtanowski K. K. Anticancer effect of the water extract of a commercial Spirulina (Arthrospira platensis) product on the human lung cancer A549 cell line. Biomedicine & Pharmacotherapy 2018; 106: 292-302.
20. Fayyad R. J, Ali A. N, Dwaish A. S, Abboodi A. K. Anticancer activity of Spirulina platensis methanolic extracts against L20B and MCF7 human cancer cell lines. Plant Arch 2019; 19(1): 1419-26.
21. Akbarizare M, Ofoghi H, Hadizadeh M, Moazami N. In vitro assessment of the cytotoxic effects of secondary metabolites from Spirulina platensis on hepatocellular carcinoma. Egyptian Liver Journal 2020; 10(1): 1-8.
22. Putri A. K, Dimarti S. C, Yuniati R, Susilaningsih N. Cytotoxicity and antiproliferation of phycocyanin from spirulina platensis extract on WiDr colon cancer cell line. Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education 2020; 12(1): 42-49.
23. El-Atrsh A, Tousson E, Elnahas E. E, Massoud A, Al-Zubaidi M. Ameliorative effects of spirulina and chamomile aqueous extract against mice bearing ehrlich solid tumor induced apoptosis. Asian Oncology Research Journal 2019; 1-17.
24. Dimarti S. C, Susilaningsih N, Yuniati R. Phycocyanin from Spirulina platensis induces cytotoxicity and apoptosis in T47D cells. Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education 2020; 12(1): 28-34.

Original Article

Cytotoxic and pro-apoptotic effects of spirulina platensis extract on SKBR-3 breast adenocarcinoma cell line

Elham Akbarian Dehkordi [1], Leila Rouhi[1*], Hossein Sazgar[1]
Khalil Khashei Varnamkhasti[1,2]

Received:2021.05.26 Revised:2021.08.11 Accepted:2021.09.11

1. Department of Physiology, Shahrekord Branch, University of Islamic Azad, Shahrekord, Iran
2. Department of Genetics, School of Medicine, University of Islamic Azad, Kazerun, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.19, No.3, Fall 2021

Pars J Med Sci 2021;19(3):1-8

Abstract:

Introduction:
Breast cancer is known as one of the most common malignancies among women. Due to Induced death of the disease recurrence in many patients, use of novel methods and drugs is very important for them. The microalgae *Spirulina platensis* is used in the treatment of many diseases, including cancer, due to its large amounts of beneficial compounds. Therefore, in the present study, cytotoxic and pro-apoptotic effects of *spirulina platensis* extract on SKBR-3 breast adenocarcinoma cell line assessed.

Materials and Methods:
In the present experimental study, the SKBR-3 breast cancer cells were treated in four experimental groups with 400, 200, 100 and 50 µg / ml extract of *spirulina* and incubated at 24 and 48 hours. Cytotoxicity was analyzed by MTS kit and apoptosis was analyzed by flow- cytometry using an Annexin V-FITC/PI kit according to the manufacturer protocol in both times. Statistical analysis was accomplished by ANOVA and Duncan tests using FlowJo and SPSS 18 softwars.

Results:
The MTS results indicate decrease in bioavailability of cells in 48h incubation time in contrary to 24h incubation time in other experimental groups. This decrease is significant at concentrations of 200, 100 and 50 µg / ml of *spirulina* extract compared to the control group (P=0.044). The induction of apoptosis at both incubation times; 24 h (P=0.036) and 48h (P=0.032) was significantly increased in other experimental groups compared to the control group.

Conclusion:
Extracts of *Spirulina platensis* can be used as a source to develop anticancer drugs against breast cancer.

Keywords: *Spirulina Platensis*, Cytotoxicity, Apoptosis, Breast adenocarcinoma, Cell line, SKBR-3

* Corresponding author Email: lrouhi59@gmail.com