View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Aquatic Commons

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103537]
Downloaded from isfj.ir at 12:11 +0330 on Thursday December 28th 2017

بررسی اثر سیتوتوکسیک و ضد سرطانی دیواره بدن خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* در شرایط آزمایشگاهی

سعید بحرودی[۱]*، محمد علی نعمت الهی[۲]، محمد رضا آقا صادقی[۳]، ملیکا ناظمی[۴]، بهادر بهروز[۵]

* S.bahroudi@gmail.com

۱- گروه فرآوری محصولات شیلاتی دانشگاه تهران
۲- گروه شیلات دانشگاه تهران
۳- گروه هپاتیت و ایدز انیستیتو پاستور ایران
۴- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس ودریای عمان
۵- گروه میکروبیولوژی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۳ **تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۳**

چکیده

در سال‌های اخیر تلاش‌ها به‌منظور یافتن مواد زیست فعال از جانداران به‌خصوص جانوران دریایی افزایش‌یافته است. در طی این پژوهش اثر ضد سرطانی و سیتوتوکسیک دیواره بدن خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور خیارهای دریایی از عمق ۱۰ الی ۳۰ متری اطراف جزیره لارک جمع‌آوری و عصاره گیری از آن‌ها با استفاده از حلال متانول و دی اتیل اتر انجام شد. عصاره‌های به‌دست‌آمده پس از تغلیظ به وسیله دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، به‌وسیله دستگاه وکیوم فریز درایر به‌صورت پودر خشک درآمد و مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور بررسی اثر سیتوتوکسیک و ضد سرطانی دیواره بدن خیار دریایی از روش رنگ سنجی XTT استفاده شد. نتایج آزمایش نشان داد که عصاره متانولی استخراج شده در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و عصاره دی اتیل اتری در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر توان ممانعت از تکثیر سلول‌های سرطانی اپیدرموید دهان انسان در محیط آزمایشگاهی را داشتند. همچنین این عصاره‌ها دارای اثر سیتوتوکسیکی قویی بر روی سلول‌های نرمال بودند. درمجموع دیواره بدن خیار دریایی دارای اثر سیتوتکسیک بسیار قوی بود و می‌توان از آن به عنوان یک ماده سیتوتوکسیک یاد کرد. ولی این عصاره‌ها ارزش درمانی قابل توجه‌ای به منظور درمان سلول‌های سرطان دهانی از خود نشان ندادند.

لغات کلیدی: خیار دریایی، دیواره بدن، عصاره متانولی، عصاره دی اتیل اتری، سیتوتوکسیک، ضد سرطان.

*نویسنده مسئول

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103537]
Downloaded from isfj.ir at 12:11 +0330 on Thursday December 28th 2017

مقدمه

زیست‌فناوری دریایی یکی از راه‌های توسعه و پیشرفت تولید محصولات جدید از جانداران دریایی است. این تولیدات می‌توانند در زمینه‌های متنوعی مانند سلامت و بهداشت (ترکیبات فعال زیستی با کاربرد دارویی)، غذا و انرژی (آنتی‌اکسیدان‌ها) و انرژی صنعتی (سوخت زیستی) کاربرد داشته باشند (Osinga *et al*., 1999). در سال‌های اخیر ترکیبات زیست فعال بسیاری از موجودات متنوع دریایی شناسایی و استخراج شده است. جستجو برای کشف متابولیت‌های جدید منجر به جداسازی حدود ۱۰۰۰ ترکیب جدید از موجودات دریایی شده است (Faulkner, 1996).

خیارهای دریایی یکی از مهم‌ترین اعضای جوامع آب‌های ساحلی ماسه‌ای و گلی اعماق دریاها هستند. این خارپوستان متعلق به راسته خارتنان و هم‌خانواده ستاره دریایی و توتیا دریایی هستند. بدن آن‌ها دارای تقارن شعاعی است و دارای پاهای لوله‌ای در بدن خود هستند که از آن برای تغذیه و حرکت استفاده می‌کنند. میانگین طول آن‌ها ۲۰۰ میلی‌متر و میانگین عرض آن۴۸ میلی‌متر است اما در صورت مساعد بودن محیط اندازه آن‌ها ممکن است به ۱ متر برسد (Hamel *et al*., 1998).

این جاندار در جنوب شرق آسیا به‌عنوان یک ماده غذایی نیروبخش و بهبوددهنده بیماری‌هایی نظیر فشارخون، آسم، روماتیسم، بریدگی و سوختگی، ناتوانی‌های جنسی و مشکلات مزاجی شناخته می‌شود (Yaacob *et al*., 1997; Wen *et al*., 2010). تابه‌حال ترکیبات زیادی از گونه‌های مختلف خیار دریایی شناسایی شده است که تعداد بسیاری از این ترکیبات جزء ترکیبات زیست فعال هستند. برخی از گونه‌های شناسایی شده در کشور مالزی به‌صورت تجاری در پزشکی و بهبود زخم، زخم‌های پوستی، آرتروز و فشارخون مورداستفاده قرار می‌گیرد (Farouk *et al*., 2007). تاکنون خواص بسیاری از خیار دریایی بررسی و اثبات‌شده‌اند که از آن جمله می‌توان به خواص ضد رگ زایی، ضد سرطانی، ضد انعقاد، ضد فشارخون، ضدالتهاب، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد تصلب شراین، ضد تومور و تسریع در بهبود زخم است (Bordbar *et al*., 2011). حضور مواد زیست فعالی مانند ساپونین‌ها، کندروتین سولفات، گلیکوز آمینو گلیکان، پلی‌ساکاریدهای سولفاته، گلیکو پروتئین‌ها، گلیکو اسفنگو لیپید و اسیدهای چرب ضروری را می‌توان عامل اصلی پیدایش این خواص در خیار دریایی دانست (Bordbar *et al*., 2011; Patar *et al*., 2012).

آمارها نشان می‌دهد که سرطان عامل اصلی مرگ‌ومیر در کشورهای پیشرفته است. در سال‌های اخیر دانشمندان برای درمان این بیماری تلاش‌های بسیاری انجام داده‌اند (Kraljevic *et al*.,2006). بدن انسان تریلیون‌ها سلول زنده تولید می‌کند. سلول‌های سالم رشد می‌کنند، به سلول‌های جدید تقسیم می‌شوند و درنهایت می‌میرند. در طی سال‌های ابتدایی زندگی هر فرد سلول‌های نرمال به‌سرعت تقسیم می‌شوند و شرایط رشد طبیعی بدن فرد را فراهم می‌کنند. بعد از بلوغ بیشتر سلول‌ها به‌منظور ترمیم و یا جایگزینی سلول‌های مرده تقسیم می‌شوند. انواع مختلفی از سرطان وجود دارد اما همه آن‌ها به دلیل رشد خارج کنترل سلول‌های غیرطبیعی بدن ایجاد می‌شوند. سرطان دهان ششمین سرطان شایع در دنیا می‌باشد که نزدیک به ۵٪ از تمام بدخیمی‌ها در مردان و ۲٪ در زنان را تشکیل می‌دهد (Rodriguez *et al*., 2004). این بدخیمی جز ده علت اول مرگ‌ومیر محسوب می‌شود. سالیانه چیزی حدود سی هزار نفر در آمریکا و دو هزار نفر در انگلیس دچار این سرطان می‌شوند. این بیماری بیشتر در افراد بالای ۴۰ سال شیوع دارد ولی در افراد جوان‌تر که از تنباکو استفاده می‌کنند، میزان مبتلایان در حال افزایش است. از عوامل اصلی ایجاد این سرطان می‌توان به مصرف دخانیات و نوشیدنی‌های الکلی اشاره کرد. به‌منظور درمان این بیماری پزشکان از روش‌هایی مانند جراحی، پرتودرمانی و شیمی‌درمانی استفاده می‌کنند درحالی‌که این سرطان به درمان مقاوم بوده و درمان آن با موفقیت چندانی همراه نیست (Atkinson *et al*., 2008).

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103537]
Downloaded from isfj.ir at 12:11 +0330 on Thursday December 28th 2017

در سال‌های اخیر محققین مطالعاتی را به‌منظور بررسی و اثبات اثر سیتوتوکسیکی گونه‌های مختلف خیار دریایی انجام داده‌اند و نتایج حاصل از این مطالعات نیز گویای وجود اثر سیتوتوکسیکی قوی در گونه‌های موردبررسی بودند (Hua *et al*., 2012; Tian *et al*., 2005; Rodriguez *et al*., 1991). بر طبق این مطالعات ترکیباتی مانند تری‌ترپن‌گلیکوزیدها عامل اصلی ایجاد این اثر در خیار دریایی معرفی شده‌اند (Hua *et al*., 2012).

گونه خیار دریایی موردبررسی در این پژوهش گونه *Holothuria leucospilota* می‌باشد که از عمق ۱۰-۳۰ متری اطراف جزیره لارک در خلیج‌فارس جمع‌آوری شدند. جزیره لارَک یکی از جزیره‌های ایران در خلیج فارس و جزئی از استان هرمزگان است.

از آنجا که خلیج‌فارس بستر مناسبی برای زیست بسیار از بی‌مهرگان مانند خیارهای دریایی می‌باشند و ازآنجاکه خیارهای دریایی نسبت به سایر خارپوستان خواص دارویی بسیار زیادی را از خود نشان داده‌اند، بررسی خواص دارویی خیارهای دریایی بسیار حائز اهمیت است.

مواد و روش کار

جمع‌آوری خیار دریایی

۱۰ عدد از گونه خیار دریایی موردنظر، هر یک به وزن تقریبی ۰/۳۵ کیلوگرم، از عمق ۱۰- ۳۰ متری اطراف جزیره لارک جمع‌آوری و با استفاده از یخ به ساحل منتقل گردید. به‌محض رسیدن به ساحل نمونه‌ها منجمد و با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی دانشگاه تهران منتقل شدند.

عصاره گیری

نمونه‌ها با استفاده از آب شیر انجماد زدایی شدند و سپس به‌طور کامل برای برداشتن گل‌ولای، ذرات خارجی و یا ماسه‌های باقیمانده از سطح بدن، با آب شسته شدند. از دو طرف خط وسط پشت بدن نمونه‌ها برش داده شدند، ارگان‌های داخلی بدن آن جدا و دیواره بدن با استفاده از آب جاری شهری پاک شد.

استخراج عصاره‌ها بر اساس روش Naik و همکاران (۱۹۸۹) انجام شد. ابتدا نمونه‌ها را شسته و سپس با استفاده از قیچی در اندازه‌های ۱ سانتیمتری برش داده شدند، نمونه‌های خردشده به ارلن منتقل شدند و ۱۰۰۰ سی‌سی دی اتیل اتر به آن اضافه شد و تمام سطح نمونه را پوشاند. با استفاده از پنبه و فویل در ارلن بسته شد و به مدّت ۲۴ ساعت در آزمایشگاه در دمای اتاق (۲۵°C) قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت محلول به‌دست‌آمده از صافی گذرانده شد تا ذرات نمونه از آن جدا شود.

به‌منظور استخراج عصاره متانولی، به نمونه‌های خردشده ۱۰۰۰ سی‌سی متانول اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه در دمای اتاق (۲۵°C) قرار گرفت. پس از ۷۲ ساعت محلول به‌دست‌آمده از صافی گذرانده شد و آنچه باقی ماند حلال متانولی و ترکیبات آلی موجود در نمونه بود.

عصاره‌های به‌دست‌آمده به‌منظور حذف حلال آن‌ها (متانول و دی اتیل اتر)، به دستگاه روتاری با دمای ۴۵°C و دور ۱۴۵ وارد شدند. به‌منظور حذف تمام حلال از عصاره نمونه‌ها بعد از این مرحله به مدت ۲۴ ساعت به‌وسیله فریز درایر خشک و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای منفی ۲۰ درجه نگهداری شدند.

بررسی فعالیت سیتوتوکسیک و ضد سرطانی

سلول‌های سرطانی اپیدرموییدِ دهان انسان (KB/ C152) و سلول کلیه جنین انسان (HEK/T293) از بخش کشت سلولی انستیتو پاستور ایران به‌صورت فلاسک تهیّه شدند و به محیط کشت DMEM[1] منتقل شد. ابتدا محیط کشت DMEM در pH ۷/۳ تهیّه گردید و توسط فیلتر میلی پور ۰/۲۲ میکرون استریل شد. سپس به محیط کشت به نسبت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پنی‌سیلینG و ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر جنتامایسین و نیز به نسبت ۱۰

[1] Dulbecco's Modified Eagle's medium

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103537]
Downloaded from isfj.ir at 12:11 +0330 on Thursday December 28th 2017

درصد سرم جنین گاو (FBS[2]) فیلتر شده به محیط اضافه شد. روزانه سلول‌های اپیدرموییدِ دهان و سلول‌های کلیه جنین انسان موردبررسی قرار گرفتند و سلامت سلول‌های منتقل‌شده به محیط کشت تازه به‌منظور ادامه آزمایش مورد تأیید قرار گرفت. پس‌ازآن که تعداد سلول‌ها (فلاسک‌های کشت سلولی) افزایش داده شد به‌منظور بررسی اثر سیتوتوکسیک عصاره متانولی از روش رنگ سنجی XTT (۲-۳-بیس (۲-متوکسی-۴-نیترو-۵-سولفونیل)-۵[(فنیل آمین) کربونیل]-H۲-تترازولیوم هیدروکسید)[3] استفاده گردید.

به‌منظور انجام آزمون XTT، ابتدا توسط عمل تریپنیزاسیون سلول‌های اپیدرموییدِ دهان و سلول کلیه جنین انسان از سطح فلاسک جدا شده و به مدّت ۵ دقیقه در ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس سلول‌ها با تراکم ۲۵×۱۰^{۳} در هرکدام از پلیت‌های ۹۶ حفره‌ای کشت سلولی توزیع گردیدند و از محیط کشت DMEM به مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر به هر حفره اضافه شد و ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد تا سلول‌های در میکرو پلیت‌ها رشد نمایند. در طول این مدّت تراکم سلولی بررسی شد و بعد از ۴۸ ساعت که سلول‌ها رشد کردند و به دیواره پلیت متّصل شدند محیط کشت سلول‌ها عوض شد و محیط کشت جدید که حاوی هر یک از عصاره‌ها با غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود به مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر اضافه گردید و آزمون سه بار تکرار شد. به‌منظور شاهد منفی در تعدادی از چاهک‌ها محیط کشت DMEM بدون ترکیب افزودنی اضافه شد. در این آزمون از ترکیب سیکلوسپورین به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت از افزودن عصاره‌ها به سلول‌ها به هرکدام از چاهک‌ها به مقدار ۵۰ میکرو لیتر محلول XTT طبق دستورات شرکت سازنده افزوده شد و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد.

سپس به‌منظور بررسی میزان زنده‌مانی سلول‌ها رنگ هرکدام از چاهک‌ها به‌وسیله الایزا ریدر موردبررسی قرار گرفت (Scudiero *et al.*, 1988).

در این بررسی کلیه آزمایش‌ها با ۳ تکرار انجام شد و به‌منظور محاسبه IC50 (غلظتی از عصاره که باعث ممانعت از تکثیر ۵۰٪ از سلول‌های سرطانی شده)، CC50 (غلظتی از عصاره که ۵۰٪ سمیت بر روی سلول‌های نرمال داشت) و TI (شاخص درمانی) از نرم‌افزار Graph Pad Prism نسخه شش استفاده شد.

نتایج

همان‌طور که از نمودار A-۱ برمی‌آید، عصاره متانولی حاصل‌شده از دیواره بدن خیار دریایی در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اثر سیتوتوکسیکی بیشتری بر سلول‌های سرطانی KB نسبت به سلول‌های نرمال از خود نشان داد. در غلظت ۵۰ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، این اثر بر سلول‌های نرمال بیشتر شد، به‌نحوی‌که در غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اثر سیتوتوکسیک عصاره تنها بر سلول‌های نرمال مشاهده می‌شود. همان‌طور که جدول- ۱ نشان می‌دهد، غلظتIC50 در این عصاره کمتر از غلظت CC50 است ولی با توجه به شاخص درمانی به‌دست‌آمده می‌توان گفت این غلظت‌ها به هم نزدیک بوده‌اند و عصاره اثر سیتوتوکسیکی قوی روی هر دو رده سلولی از خود به نمایش گذاشته است.

عصاره دی اتیل اتری به‌دست‌آمده از دیواره بدن خیار دریایی، همان‌طور که در نمودار B-۱ قابل روئیت است، جز در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اثر سیتوتوکسیک عصاره روی سلول‌های نرمال HEK بیشتر از سلول‌های سرطانی KB بود. در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیز میزان زنده‌مانی سلول‌های نرمال در حدود ۴۱ درصد بود که عدد نسبتاً خوبی به شمار نمی‌رود و نشان‌دهنده سیتوتوکسیتی بالای این عصاره بر سلول‌های نرمال است. بررسی جدول-۱ نیز گویای این مطلب است

[2] Fetal Bovine serum

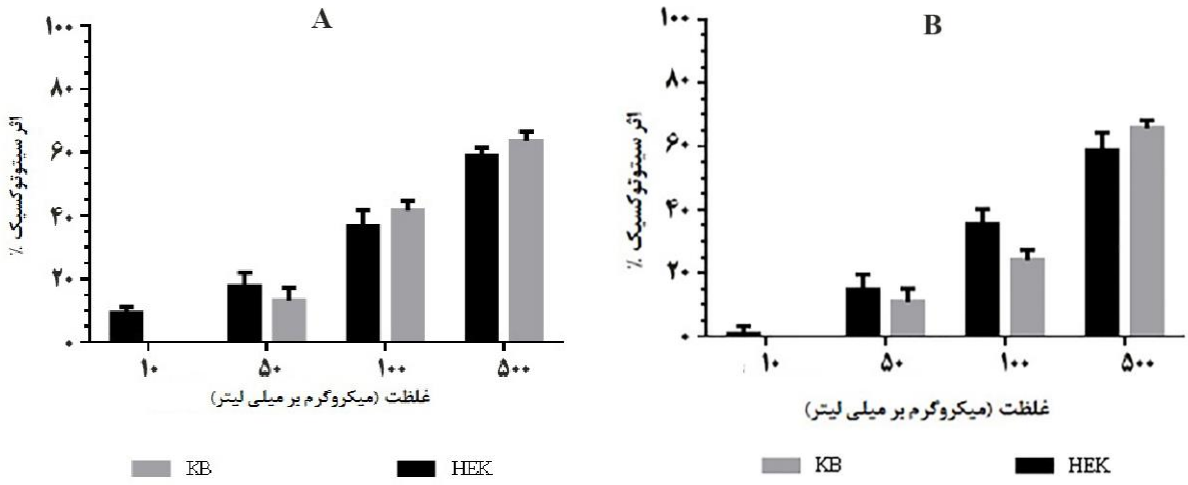
[3] 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5sulphonyl)-5[(phenylamino)carbonyl]-2 H -tetrazolium hydroxide

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103537]
Downloaded from isfj.ir at 12:11 +0330 on Thursday December 28th 2017

که غلظت‌های IC50 و CC50 مربوط به این عصاره نزدیک به هم بودند به‌نحوی‌که شاخص درمان به‌دست‌آمده برای این عصاره عددی نزدیک به یک را نشان می‌دهد.

جدول ۱: میزان IC50 (میکروگرم بر میلی‌لیتر)، CC50 (میکروگرم بر میلی‌لیتر) و TI (شاخص درمانی) عصاره متانولی و دی اتیل اتری دیواره بدن خیار دریایی

	عصاره متانولی	عصاره دی اتیل اتری
% IC50	۲۲۴/۹ ± ۱/۳۳	۲۷۹ ± ۱/۱۷
% CC50	۲۸۱ ± ۱/۱۸	۲۸۴/۹ ± ۱/۱۹
TI (CC50/IC50)	۱/۲۴	۱/۰۲



نمودار ۱: مقایسه میزان اثر سیتوتوکسیک عصاره‌های متانولی (A) و دی اتیل اتری (B) دیواره بدن خیار دریایی بر روی سلول‌های سرطانی (KB) و نرمال (HEK293T)

بحث

مقالات زیادی از حضور مواد دارای خاصیت ضد سرطانی در خیار دریایی خبر می‌دهند (Ogushi *et al.*, 2005). همان‌طور که از نتایج برمی‌آید، عصاره متانولی دیواره بدن خیار دریایی تا حدودی از خود خاصیت ضد سرطانی نشان دادند و مانع از رشد سلول‌های سرطانی اپیدرموئید دهان انسان شدند. Ogushi و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۶ اثبات کردند، مولکول‌های بزرگ استخراج‌شده از خیار دریایی، وابسته به غلظت مصرفی قادر به ممانعت از رشد سلول‌های سرطان روده بزرگ هستند. در عصاره متانولی دیواره بدن خیار دریایی، میزان اثر سیتوتوکسیک عصاره نسبت به اثر ممانعت از رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی اپیدرموئید دهانی انسان مقداری کمتر بود. شاخص درمانی به‌دست‌آمده در مورد این عصاره نیز گویای این مطلب است. همان‌طور که در نمودار ۱ نیز مشخص است عصاره متانولی خام استخراج‌شده از دیواره بدن خیار

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103537]
Downloaded from isfj.ir at 12:11 +0330 on Thursday December 28th 2017

دریایی بهترین شاخص درمانی را در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، بین سایر غلظت‌ها از خود به‌جای گذاشته است و می‌توان با پی بردن به ترکیبات مؤثره این عصاره و تخلیص این ترکیبات اثر ممانعت کنندگی بیشتری بر روی سلول‌های سرطانی به‌جای گذاشت. همان‌طور که Tian و همکارانش در سال ۲۰۰۵ همچنین خواص ضد توموری و ضد رگ زایی تری ترپن‌های گلیکوزیدی استخراج‌شده از خیار دریایی را به اثبات رساندند.

Rodriguez و همکارانش (۱۹۹۱) ۵ نوع تری ترپن و ساپونین از خیار دریایی گونه *Holothuria forskalii* جداسازی نمودند و اثر سیتوتوکسیک و ضدویروسی آن‌ها را گزارش کردند. ازآنجاکه ساپونین در حلال‌های قطبی قابل انحلال است، می‌توان گفت این ترکیبات، ترکیب اصلی در این عصاره هستند که باعث ایجاد خاصیت سیتوتوکسیکی در این عصاره شده است. فعالیت سیتوتوکسیکی گلیکوزیدهای تری ترپنی درنتیجه توانایی این ترکیب با ایجاد کمپلکس با غشای سلولی و ایجاد کانال‌های یونی و خلل و فرج در سلول‌ها است. این امر درنهایت باعث اختلال در تنظیم اسمز سلولی و درنهایت مرگ سلول می‌شود (Chludil *et al.*, 2003). همچنین Hua و همکارانش (۲۰۱۲) فعالیت سیتوتوکسیکی تری‌ترپن‌گلیکوزیدهای استخراج‌شده از خیار دریایی *Holothuria scabra* را موردبررسی قراردادند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که این ترکیبات اثر سیتوتوکسیکی قوی بر روی این ۵ رده سلولی از خود داشت ولی در این تحقیق به میزان این اثر بر روی سلول‌های نرمال و همچنین شاخص درمان برای این ترکیبات گزارش نشد. با توجه به این مطالب می‌توان دلیل اثر سیتوتوکسیکی قوی این عصاره‌ها را بر روی سلول‌های نرمال متوجه شد.

در عصاره دی اتیل اتری استخراج‌شده از دیواره بدن خیار دریایی، اثر سیتوتوکسیکی بالایی روی هر دو رده سلولی مشاهده شد و با توجه به شاخص درمانی به‌دست‌آمده برای این عصاره می‌توان گفت این اثر روی هر دو رده سلولی تقریباً یکسان بوده است. Althunibat و همکاران (۲۰۱۳) اثر ضد سرطانی دو گونه از خیار دریایی (*Holothurian edulis* و *Stichopus horrens*) را موردبررسی قراردادند و به این نتیجه رسیدند که عصاره ارگانیک به‌دست‌آمده از *S. horrens* اثر سیتوتوکسیک بسیار قوی در برابر دو رده سلولی موردبررسی دارد. عصاره دی اتیل اتری استخراج‌شده از دیواره بدن خیار دریایی می‌تواند غنی از بازهای اسفنگوئیدی باشند (Althunibat et al., 2009). این ترکیبات از خیار دریایی جداسازی شده‌اند و خاصیت سیتوتوکسیکی آن نیز به اثبات رسیده است (Sugawara *et al.*, 2006). اسفنگوئیدهای بازی باعث ایجاد تغییرات مورفولوژیکی در قطعات فشرده کروماتین و افزایش فعالیت کاسپاز ۳ (caspase-3) می‌شود که این امر نشان‌دهنده کاهش زنده‌مانی به‌وسیله آپوپتوز سلول‌ها است. همچنین اسفنگو لیپیدهای به‌دست‌آمده از خیار دریایی می‌توانند به‌عنوان یک ماده برای سرکوب سرطان روده بزرگ در رژیم غذایی مورداستفاده قرار بگیرد (Sugawara *et al.*, 2006). به‌علاوه Yangو همکارانش در سال ۲۰۰۳ زنجیره اسید چرب ۱۲- متیل تترادکانوئیک اسید را از خیار دریایی استخراج کردند و اثبات کردند که این ترکیب مانع از تکثیر سلول‌های سرطان پروستات (PC3) می‌شود (Yang *et al.*, 2003).

در کل با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش XTT که به‌منظور بررسی اثر ضد سرطانی احتمالی دیواره بدن خیار دریایی انجام شد، مشخص می‌شود که عصاره‌های استخراج‌شده از خیار دریایی توان ممانعت از تکثیر سلول‌های سرطانی اپیدرموید دهان انسان (KB) در محیط Vitro را دارند؛ اما این عصاره‌ها اثر سیتوتوکسیکی قوی نیز روی سلول‌های نرمال داشتند که این امر سبب کاهش ارزش دارویی و درمانی این عصاره به‌منظور درمان

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103537]
Downloaded from isfj.ir at 12:11 +0330 on Thursday December 28th 2017

این سرطان شد؛ اما با توجه به مطالعات قبلی و همچنین نتایج حاصل‌شده از این بررسی، می‌توان انتظار داشت که با شناسایی و استخراج مواد مؤثره موجود در این عصاره‌ها، شاهد اثر درمانی به‌مراتب بهتری باشیم.

تشکر و قدردانی

در انتها جا دارد از زحمات و پشتیبانی‌های استاد خوبم دکتر سید ولی حسینی و همچنین راهنمایی‌های دکتر روح‌الله وهاب پور و کمک‌های بی‌شائبه مهندس سپیده افشار رضایی کمال قدردانی را داشته باشیم.

منابع

Althunibat O.Y., Hashim R.B., Taher M., Daud J.M., Ikeda M.A. and Zali B.I., 2009. In vitro antioxidant and anti proliferative activities of three Malaysian sea cucumber species. European Journal of Scientific Research, 37 (3): 376-387.

Atkinson J.C., Harvey K.E. and Domingo D.L., 2008. Oral and dental phenotype of dyskeratosis congenita. Oral Disease, 14: 419–427.

Bordbar S., Anwar F. and Saari N., 2011. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods. Marine Drugs, 9: 1761-1805.

Chludil, H.D. Murray, A.P. Seldes, A.M. and Maier, M.S., 2003. Biologically active triterpene glycosides from sea cucumbers (holothuroidea, echinodermata). Studies in natural products chemistry, 28 (Part I): 587-616.

Farouk A.A., Ghouse F.A.H. and Ridzwan B.H., 2007. New bacterial species isolated from Malaysian sea cucumbers with optimized secreted antibacterial activity. Americam Journal of Biochemistry and Biotehcnology, 3: 60-65.

Faulker J., 1996. Marine natural products. Natural Products, 13: 75- 125.

Hamel J.F. and Mercer A., 1996. Evidence of chemical communication during the Gametogenesis of *Holothuroids*. Ecology, 77 (5): 1600-1616.

Hua H., ling L., Yangyang-Hua Y., Xiao-Hua W. and Min-Xiang P., 2012. Tiriterpen glycosides from sea cucumber *Holothuria scabra* with cytotoxic activity. Chinese Herbal Medicines, 4(3): 183-188.

Kraljevic S., Sedic M., Scott M., Gehrig P., Schlapbach R. and Pavelic K., 2006. Casting light on molecular events underlying anti-cancer drug treatment: what can be seen from the proteomics point of view. Cancer Treatment Reviews, 32(8): 619-29.

Naik C.G., Kamat S.Y., Parameswaran P.S., Das B., Bhattacharya S., Ramani P., Bhakuni D.S., Goel A.K., Jain S. and Srimal R.C., 1989. Bioactivity of marine organisms. IV- Screening of some marine animals from the Indian Ocean.

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103537]
Downloaded from isfj.ir at 12:11 +0330 on Thursday December 28th 2017

Mahasagar - Bulletin National Institute of Oceanography, 22: 99-104.

Ogushi M., Yoshie-stark M. and Suzuki T., 2005. Cytostatic Activity of Hot Water Extracts from the Sea Cucumber in Caco-2. Food Science and Technology Research. 11(2): 202-206.

Ogushi M., Yoshie-stark M., and Suzuki T., 2006. Apoptosis-inducing Activity of HotWater Extracts from the Sea Cucumber in Human Colon Tumor Cells. Food Science and Technology Research, 12 (4): 290-294.

Patar A., Jamalullail S.M.S.S., Jaafar H. and Abdullah J.M., 2012. Analysis of sea cucumber body wall extracts from *Perhentian stichopus variegatus* species using gas chromatography mass spectrophotometry. European Journal of Scientific Research, 68(1): 54-59.

Rodriguez J., Castro R. and Riguera R., 1991. Holothurinosides: New anti-tumor non sulphated triterpenoid glycosides from the sea cucumber *Holothruia forskalii*. Tetrahedron, 47: 4753-4762.

Rodriguez T., Altieri A., Chatenoud L., Gallus S., Bosetti C., Negri E., Franceschi S., Levi F., Talamini R. and Vecchia C.L., 2004. Risk factors for oral and pharyngeal cancer in young adults. Oral Oncology, 40: 207–213.

Scudiero DA., Shoemaker RH., Paull KD., Monks A., Tierney S., Nofziger TH., Currens MJ., Seniff D. and Boyd MR., 1988. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. Cancer Res, 48(17):4827-33.

Sugawara T., Zaima N., Yamamoto A., Sakai S., Noguchi R. and Hirata T., 2006. Isolation of sphenoid bases of sea cucumber cerberosides and their cytotoxicity against human colon cancer cells. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 70: 2906–2912.

Tian F., Zhang X., Tong Y., Yi Y., Zhang S., Li L., Sun P., Lin L. and Ding J., 2005. A new sulfated saponin from sea cucumber, exhibits anti-angiogenic and anti-tumor activities in vitro and in vivo. Cancer Biology & Therapy, 4: 874-882.

Wen J., Hu C. and Fan S., 2010. Chemical composition and nutritional quality of sea cucumbers. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90: 2469–2474.

Yaacob H.B., Kim K.H., Shahimi M., Aziz N.S. and Sahil S.M., 1997. Malaysian sea cucumber (Gamat): A prospect in health food and therapeutic. In: Proceeding of

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103537]

Downloaded from isfj.ir at 12:11 +0330 on Thursday December 28th 2017

Asian Food Technology Seminar, Kuala Lumpur, Malaysia, 6 P.

Yang P., Collin P., Madden T., Chan D., Sweeney-Gotsch B., McConkey D. and Newman R.A., 2003. Inhibition of proliferation of PC3 cells by the branched-chain fatty acid, 12-methyltetradeca- noic acid, is associated with inhibition of 5-lipoxygenase. Prostate, 55: 281–291.

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103537]
Downloaded from isfj.ir at 12:11 +0330 on Thursday December 28th 2017

In vitro cytotoxic and anti-cancer effects of body wall for sea cucumber (*Holothuria leucospilota*)

Bahroodi, S.[(1)*]; Nematollahi, M. A.[(2)]; Aghasadeghi, M.R.[(3)]; Nazemi, M.[(4)]; Behroz, B.[(5)]

* S.bahroudi@gmail.com

1-processing marine products, Fisheries Dept. Faculty of Natural Resources/ University of Tehran, Karaj, Iran

2-Fisheries Dept. Faculty of Natural Resources/ University of Tehran, Karaj, Iran

3-Hepatitis and AIDS Departments, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.

4-Persian Gulf and Oman Sea Ecological Research Institute, Bandar abbas, Hormozgan, Iran

5-Microbiology Department of Tehran, University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Key words: Sea cucumber, body wall, methanolic extract, diethyl etheric extract, cytotoxic, anti-cancer

Abstract

In recent years efforts to find bioactive compounds from live organisms especially marine animals have been increased. In the present study, the anticancer and cytotoxic effects of sea cucumber body walls (*Holothuria leucospilota*) were investigated. For this purpose, sea cucumbers were collected from Larak Island at depths of 10 to 30 m and extraction process was done with methanol and diethyl ether solvent which then concentrated by rotary evaporator (40℃) following lyophilization with vacuum freeze dryer. XTT method was used to investigate anticancer and cytotoxic effects of body wall extracts. The results showed that the methanolic extract could prevent proliferation of human oral epidermoid carcinoma cells (KB) at concentrations of 100 and 500 µg/ml. The diethyl etheric extract also could prevent proliferation of KB at 500 µg/ml concentration. Overall result showed that sea cucumber body wall had a strong cytotoxic effect on normal cell line (Human embryonic kidney cell [HEK]) which can be used as potent cytotoxic material. However these extracts did not show significant therapeutic value against KB cells.

*Corresponding author