Research Paper

The effect of *Sargassum tenerrimum* seaweed extracts on VEGF gene expression in SW742 colorectal cancer cell line

Mehrnoush Masoudi[1], Hoda Khaledi[2*], Bita Archangi[1], Ali Khodadadi[3], Gholamabbas Dinarvand[4], Seyedeh Maryam Mousavi[5]

1. Department of Biology, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran
2. Institute of Marine Sciences, Iranian National Institute for Oceanography and Atmospheric Science, Tehran
3. Department of Immunology, Faculty of Medicine, Jondishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
4. Department of Basic Sciences, School of Medicine, Abadan University of Medical Sciences, Abadan, Iran
5. Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

*** Corresponding author e-mail: hodakhaledi@inio.ac.ir**

Citation: Masoudi M, Khaledi H, Archangi B, Khodadadi A, Dinarvand Gh, Mousavi M. The effect of Sargassum tenerrimum seaweed extracts on VEGF gene expression in SW742 colorectal cancer cell line. Daneshvar Medicine 2022; 30(3):52-62.
doi: 10.22070/DANESHMED.2022.15747.1169

Abstract

Background and Objective: Colon cancer is one of the most common cancers that causes many deaths worldwide. Efforts to find compounds with anti-cancer potential, especially from marine environments due to the richness of these environments in the field of organisms producing bioactive compounds, are among the topics of interest to researchers. Accordingly, the aim of this study was to investigate the effect of Sargassum tenerrimum seaweed extract on the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene in colorectal cancer cells.

Materials and Methods: In the present study, three methanolic, chloroform and hydroalcoholic extracts of Sargassum tenerrimum seaweed from Persian Gulf were prepared and the effect of three concentrations 250, 500 and 750 mg/ml of each extract on VEGF expression was evaluated in SW742 cells of colorectal cancer using Real Time PCR. Data were analyzed using One Way ANOVA along with LSD test.

Results: The results showed that hydroalcoholic extracts at concentrations of 500 and 750 mg/ml and chloroform and methanolic extracts at concentrations of 700 mg/ml caused a significant decrease in VEGF expression in SW742 cells ($P < 0.05$).

Conclusion: These results indicate the anti-cancer potential of Sargassum tenerrimum extract by reducing VEGF expression and angiogenesis.

Keywords: Colorectal cancer, Sargassum, Angiogenesis inhibitors, Vascular endothelial growth factors

Received: 20 May 2022
Last revised: 06 Aug 2022
Accepted: 14 Aug 2022

مقاله پژوهشی

بررسی اثر عصاره های جلبک *Sargassum tenerrimum* بر بیان ژن VEGF در رده سلولی سرطان کولورکتال SW742

نویسندگان: مهرنوش مسعودی[۱]، هدی خالدی[۲*]، بیتا ارچنگی[۱]، علی خدادادی[۳]، غلامعباس دیناروند[٤]، سیده مریم موسوی[٥]

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
۲- پژوهشکده علوم دریایی، پژوهشگاه ملی اقیانوس شناسی و علوم جوی، تهران، ایران
۳- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران
٤- گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آبادان، آبادان، ایران
٥- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

*نویسنده مسئول: هدی خالدی **Email: hodakhaledi@inio.ac.ir**

چکیده

مقدمه و هدف: سرطان روده‌ی بزرگ از جمله سرطان های شایع است که مرگ‌ومیر بسیاری را در سراسر جهان موجب می‌شود. تلاش برای یافتن ترکیبات دارای پتانسیل ضد سرطانی به ویژه از محیطهای دریایی با توجه به غنی بودن این محیطها در زمینه ی دارا بودن ارگانیسم‌های تولید کننده‌ی ترکیبات فعال زیستی، از جمله موضوعات مورد توجه محققین است. بر همین اساس هدف از تحقیق حاصل، بررسی اثر عصاره ی جلبک دریایی *Sargassum tenerrimum* بر بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروق (VEGF) در سلول های سرطانی کولورکتال بود.

مواد و روش ها: در تحقیق حاضر سه عصاره ی متانولی، کلروفرمی و هیدروالکلی از جلبک دریایی *Sargassum tenerrimum* خلیج فارس، تهیه شد و اثر سه غلظت ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر هر یک از عصاره ها بر روی بیان ژن VEGF در سلول های SW742 رده‌ی سرطان کولورکتال با استفاده از روش Real Time PCR ارزیابی گردید. آنالیز داده‌های حاصل با استفاده از آزمون One Way ANOVA همراه با تست LSD انجام شد.

نتایج: نتایج حاصل نشان داد که عصاره ی هیدروالکلی در غلظت ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر و عصاره‌های کلروفرمی و متانولی در غلظت ۷۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر موجب کاهش معنادار بیان VEGF در سلول های مورد مطالعه می شوند ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: این نتایج پتانسیل ضد سرطانی عصاره‌ی *Sargassum tenerrimum* را از طریق کاهش بیان **VEGF** و آنژیوژنز نشان می دهد.

واژه های کلیدی: سرطان کولورکتال، سارگاسوم، مهارکنندگان رگ زایی، فاکتور رشد اندوتلیال عروق

دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۳۰
آخرین اصلاح‌ها: ۱۴۰۱/۰۵/۱۵
پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۲۳

مقدمه

سرطان یکی از علل اصلی مرگ در سراسر جهان است و انتظار می رود که بیماران مبتلا به سرطان در دو دهه آینده به ۲۲ میلیون نفر برسند. این بیماری یک مشکل عمده بهداشت عمومی در سراسر جهان است و دومین علت مرگ بعد از بیماری های قلبی در ایالات متحده محسوب می شود (۱). سرطان روده چهارمین سرطان شایع در جهان بوده و سومین علت مرگ و میر در آمریکا و جوامع غربی است. این بیماری در زنان و مردان با نسبت برابری ایجاد می شود. با وجود پیشرفت های اخیر در درمان سرطان، میزان نجات افراد از مرحله متاستازی این بیماری تنها ۵٪ است (۲). گزارش شده است که مبتلایان به سرطان روده بزرگ در ایران به صورت قابل توجهی جوان می باشند به طوری که ۲۰٪ از بیماران داخل کشور را بیماران زیر ٤٠ سال تشکیل می دهند در حالی که این میزان در کشورهای غربی ۸-۲٪ است (٤،۳). از عوامل مهم در بروز سرطان روده بزرگ می توان به عامل وراثت , نوع زندگی فردی از جمله نوع تغذیه و فعالیت بدنی و مواجهه با مواد خطرناکی نظیر سیگار، الکل و عوامل عفونی اشاره کرد (۵).

آنژیوژنز فرآیندی است که در آن رگ های جدید از رگ‌های پیشین موجود، رشد می کنند. اگر تعادل بین فاکتورهای القا کننده و مهار کننده‌ی رگ زایی دچار اختلال شود، زمینه برای بروز بیماری ها از جمله رشد و متاستاز سلول های سرطانی فراهم خواهد شد. رشد و متاستاز تومور، نیازمند آنژیوژنز یا تشکیل عروق خونی جدید و توانایی حمله و درگیرسازی بافت های جدید توسط سلول های سرطانی مهاجم است و کنترل آنژیوژنز می تواند یک استراتژی ضد توموری باشد (٦،۷). امروزه بسیاری از محققین از ترکیبات طبیعی به عنوان مهارکننده‌های آنژیوژنز و تهاجم سلولی به عنوان راهکارهای ضد توموری استفاده می کنند. در واقع از آنجایی که آنژیوژنز در متاستاز تومورهای سرطانی دارای نقش مهمی است، می تواند هدف درمان های ضد توموری قرار گیرد (۸). از مهمترین فاکتورهای آنژیوژنیک می توان از فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) را نام برد. فرآیند آنژیوژنز به وسیله فاکتور رشد VEGF و فعال شدن مسیرهای پیام رسان JAK/STAT میانجی‌گری می شود (۹). VEGF مترشحه از سلول های توموری در تکثیر، مهاجرت، سازماندهی مجدد اسکلت سلولی و مورفوژنز توبولی سلول های اندوتلیال عروق نقش محوری دارد. ترشح لپتین، محرومیت غذایی و هیپوکسی با افزایش ROS باعث افزایش بیان ژن VEGF با دخالت فاکتور القاء شونده توسط هیپوکسی (HIF-1) و P300 می شوند و آنژیوژنز را القا می‌نمایند (۱۰).

جلبک ها به عنوان بخش مهمی از فلور سواحل جزر و مدی و تولید کنندگان اولیه اکوسیستم های دریایی محسوب می شوند که تنوع گونه ای آن ها در نواحی جزرو مدی اقیانوس ها و دریاها، تابع عوامل جغرافیایی و اقلیمی حاکم بر آن مناطق می‌باشند. در نواحی معتدل به هم‌آمیختگی پدیده جزر و مد با تغییرات عوامل محیطی منجر به غنای زیاد جوامع جزر ومدی می گردد (۱۱). جلبک ها از دو جنبه ی اقتصادی و اکولوژیکی دارای اهمیت زیادی می باشند. از نظر اکولوژیکی جلبک ها در پایه هرم انرژی اکوسیستم های عظیم دریایی بوده و به عنوان تولید کنندگان اصلی زنجیره غذایی، تثبیت کنندگان ازت و ایجاد کننده اکوسیستم های خاص و تامین زیستگاه مناسب برای آبزیان دارای نقش حیاتی هستند. از جنبه های اقتصادی می‌توان تهیه علوفه، کود و تولید بسیاری از پلی ساکاریدهای با ارزش نظیر آگار، کاراژینان و آلژین ها از جلبک ها را نام برد (۱۲). جلبک های قهوه ای از بزرگ ترین و مغذی ترین جلبک های دریایی هستند و در حال حاضر به عنوان منبع غنی غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می گیرند. جلبک هایی که در آب های کم عمق دریاها و مصب رودخانه ها و روی سطوح سنگی و مرجانی زیست می کنند، به دلیل منابع غنی ترکیبات مفید و فعال زیستی و اثرات آنتی بیوتیکی، ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد سرطانی، مورد توجه محققین قرار گرفته اند (۱۳).

گسترش روز افزون بیماری سرطان و ناکارآمدی روش‌های درمانی موجود، موجب تلاش بیشتر محققان برای یافتن داروهای موثر با اثرات جانبی کمتر شده است. ترکیبات زیستی طبیعی به عنوان دارو توجه بسیاری را به خود جلب

کرده اند. عصاره‌ی جلبک های مختلف می توانند موجب مهار رشد سلول های سرطان روده بزرگ و دیگر سرطان‌ها شوند. شواهد نشان می‌دهند که مواد زیست فعال موجود در جلبک ها، اثرات ضد سرطانی را از طریق مکانیسم های عملکردی چندگانه، از جمله مهار رشد سلول سرطانی، تهاجم و متاستاز و القای مرگ سلولی در سلول های سرطانی ایجاد می کنند (۱٤).

جلبک قهوه‌ای سارگاسوم از خانواده ی Sargassaceae، راسته‌ی Fucals و رده‌ی Phaeophyceae، از گستردگی نسبتاً وسیعی در سواحل برخوردار است (۱۵). به طور کلی جلبک های دریایی مصارف مختلفی از جمله به عنوان غذای دام، طیور و آبزیان، مصارف انسانی، استفاده به عنوان کود و ترکیبات فعال زیستی دارند. ترکیبات زیست فعال آن ها از جمله ترکیبات پلی ساکاریدهای سولفاته، فلوروتانین‌ها و دیترین‌ها بخصوص در جلبک‌های قهوه ای به دلیل ویژگی‌های ضد باکتریایی، ضد ویروسی و ضد سرطانی در صنایع مختلف کاربرد دارند (۱٦). ترکیبات فنلی به عنوان آنتی‌اکسیدان های موثر در جلبک‌های قهوه ای، بین۳۰-۲۰ درصد وزن خشک این جلبک ها را به خود اختصاص داده اند (۱۷). ترکیبات زیست فعال با نقش آنتی-اکسیدانی در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری ها از جمله سرطان به ایفای نقش می پردازند. در بین جلبک های قهوه‌ای، جنس سارگاسوم از پتانسیل بالایی در خواص ضد سرطانی برخوردار است (۱۸). بر همین اساس هدف مطالعه ی حاضر بررسی اثر عصاره ی جلبک *Sargassum tenerrimum* بر روی بیان ژن VGFR در رده سلولی SW742 سرطان روده بزرگ بود.

مواد و روش‌ها

محل نمونه برداری

نمونه برداری از جلبک قهوه ای سارگاسوم در فصول بهار، تابستان و پاییز سال ۱۳۹۲ در سواحل استان بوشهر انجام پذیرفت. نمونه برداری در زمان جزرکامل و در ایستگاه‌های تعیین شده توسط دستگاه موقعیت یاب جغرافیایی صورت گرفت. با توجه به حضور گونه های جلبکی مورد نظر، موقعیت ایستگاه ها، میزان فعالیت های انسانی در منطقه، قابلییت دسترسی و مناسب بودن شرایط بهینه کشندی و خصوصیات توپوگرافی، زیست محیطی، اقلیمی و همچنین با توجه به مطالعات گذشته، ایستگاه دانشگاه بوشهر برای نمونه برداری انتخاب شد.

نمونه برداری

جهت نمونه برداری جلبک های ماکروسکوپی، از روش نمونه برداری ترانسکت خطی استفاده شد و بدین منظور از منطقه ی بالای جزر و مدی تا پایین جزر و مدی، یک خط مستقیم فرضی در نظر گرفته شد و پرتاب تصادفی کوادرات در محدوده این خط از ساحل به دریا انجام گردید. به منظور انجام کارهای آماری در هر منطقه کشندی سه تکرار (پرتاب سه کوادرات) انجام شد. جلبک های داخل کوادرات پرتاب شده با تمام زوائد جمع آوری و درون کیسه های پلاستیکی به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل شدند. در آزمایشگاه جهت تایید گونه جلبک، خصوصیات ریخت شناسی نمونه های جمع آوری شده شامل رنگ، اندازه و پهنک ها بررسی و با کمک کلیدهای شناسایی معتبر (۱۹)، سایت مرجع Algaebase[1]، اطلس رنگی جلبک های سواحل خلیج فارس و دریای عمان (۲۰) و دیگر تحقیقات انجام شده در این زمینه، گونه *Sargassum tenerrimum* تایید گردید.

آماده سازی جلبک ها

در آزمایشگاه جلبک های سارگاسوم با دقت شسته و از شن و ماسه و جانداران همزیست سطحی کاملا عاری شدند و با هدف عصاره گیری و خروج املاح، درون آب مقطر غوطه ور شدند و هر چند ساعت آب آنها تعویض گردید. سپس روی پارچه تمیزی در سایه گسترانیده و طی سه روز نمونه ها خشک و پودر شدند.

عصاره گیری از جلبک

جهت عصاره گیری از جلبک ها از سه حلال متانول، کلروفرم و هیدروالکل استفاده شد. در هر سه حالت عصاره گیری از ۱۵۰ گرم پودر جلبک استفاده شد که به طور جداگانه با ۲۳۳ میلی لیتر اتانول، ۲۵۰ میلی لیتر کلروفرم و ۲۰۰ میلی لیتر هیدروالکل مخلوط شده بودند. بعد از ٤۸ ساعت نگهداری ارلن های حاوی پودر جلبک و حلال در

[1] https://www.algaebase.org/

دمای ۳۵ درجه سانتی گراد، نمونه ها به طور جداگانه و هر نمونه دو بار از کاغذ صافی عبور داده شدند و مواد جامد یا همان پودر جلبک که در کاغذ صافی باقی مانده بود، دور ریخته شد. محلول های بدست آمده تا تبخیر کامل محلول و باقی ماندن مایع غلیظ عصاره جلبک، در دستگاه روتاری قرار داده شدند. در آخر عصاره ها در پلیت ریخته شدند و حدود ٤٨ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری گردیدند (۲۱،۲۲).

تهیه و کشت سلول های رده ی SW742

سلول های رده‌ی SW742 آدنوکارسینوم کولورکتال از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. سلول‌ها در محیط کشت RPMI با ۱۰٪ FBS و ۱٪ پنی سیلین/استرپتومایسین کشت داده شدند و در انکوباتور با 5% CO2، رطوبت ۹۵٪ و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند.

تیمار سلول ها با عصاره ی جلبک

از هر یک از عصاره های تهیه شده با حلال های مختلف، سه غلظت ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر در محیط کشت RPMI 1640 تهیه شد. برای هموژن شدن و مخلوط شدن عصاره با محیط، ۲-۱ قطره دی متیل سولفوکساید (DMSO) به آن اضافه گردید. سلول های SW742 در چاهک های پلیت ۹٦ چاهکی حاوی محیط کشت دارای عصاره جلبک کشت داده شدند و به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. همچنین در چاهک کنترل، از محیط کشت فاقد عصاره جلبک استفاده گردید.

بررسی بیان ژن VEGF تحت تاثیر عصاره ی جلبک

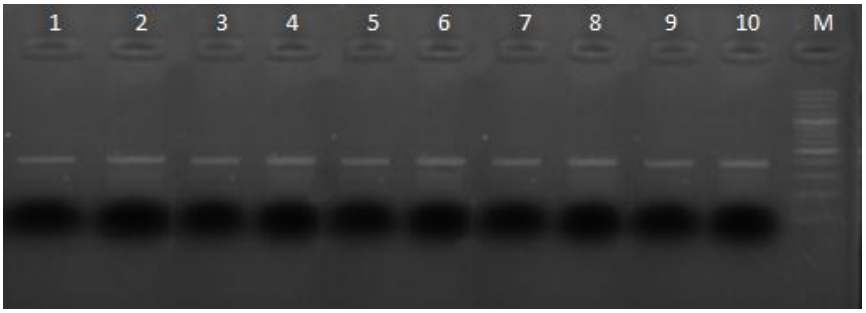
استخراج RNA با استفاده از کیت Thermo Scientific GeneJET RNA Purification Kit و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت صورت گرفت. کمیت و کیفیت RNA استخراج شده به ترتیب با اسپکتروفتومتری و الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵٪ مورد بررسی قرار گرفت. پس از سنتز cDNA از RNA با استفاده از کیت RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit-Thermo Fisher، واکنش Real time PCR با استفاده از پرایمرهای رفت و برگشت به ترتیب با توالی CACCATCGACAGAACAGTCC و GAATCCAATTCCAAGAGGGA انجام شد. برای این منظور ۱۲/۵ میکرولیتر از سایبرگرین (Amplicon Bio, Korea)، ۲ میکرولیتر از نمونه Cdna، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها (۱۰pmol) و ۸/۵ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر مخلوط گردید و با سیکل دمایی شامل یک سیکل ۱۰ دقیقه‌ای در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد که با ٤٠ سیکل شامل ۱۵ ثانیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه ٦٠ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه ۷۲ درجه سانتی‌گراد ادامه پیدا می‌کرد، واکنش Real Time PCR انجام شد. روش comparative C_t ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) برای مطالعه تغییرات نسبی میزان بیان ژن مورد استفاده قرار گرفت. از ژن خانه‌دار GAPDH به عنوان ژن کنترل استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده ها ازآزمون شاپرورویلک استفاده شد. جهت تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها در گروه ها از آزمون آماری One Way ANOVA همراه با تست LSD در سطح ($p<۰/۰۵$) استفاده گردید. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS-20 استفاده شد.

نتایج

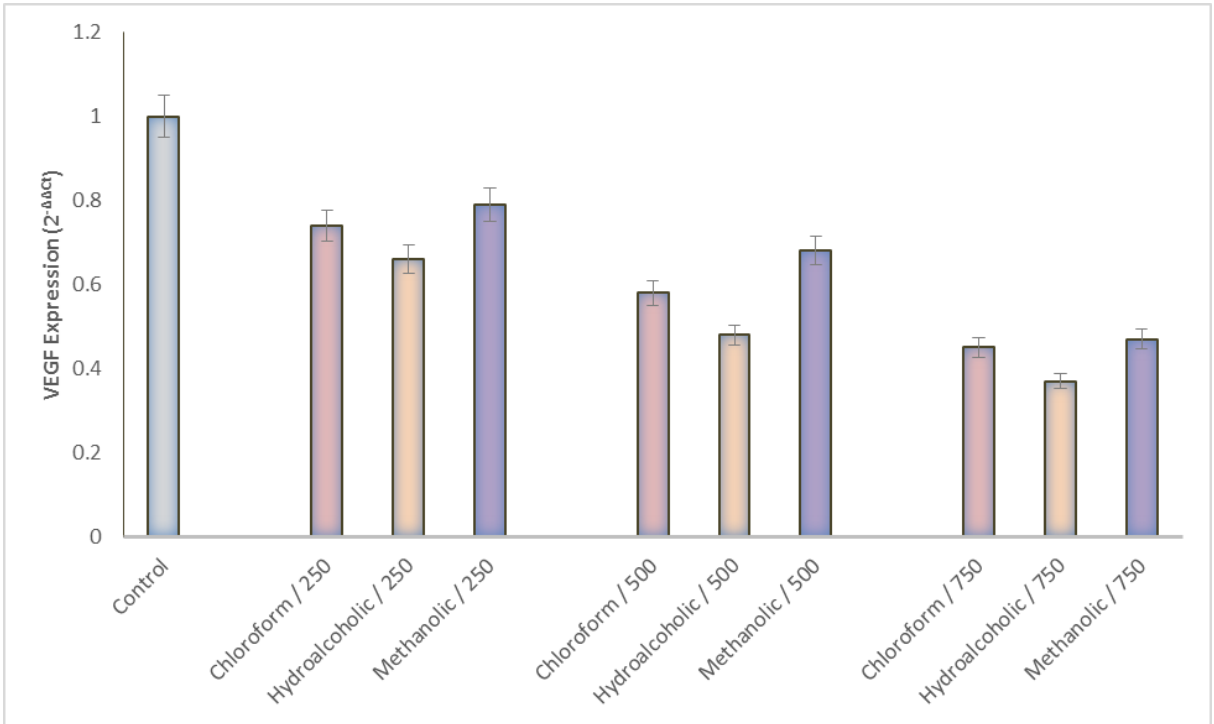
بررسی کمی و کیفی RNA استخراج شده: کمیت RNA با استفاده از دستگاه نانودراپ سنجیده شد و برای نمونه های دارای مقادیر بالا و یا پایین تر از حد نرمال نسبت جذب نوری ۲٦۰/۲۸۰ و ۲۳۰/۲٦۰، استخراج RNA مجدداً انجام شد. تشکیل باندهای تک و شارپ در الکتروفورز بر روی ژل آگارز نیز، کیفیت RNAهای استخراج شده را تایید نمود (شکل ۱).



شکل ۱. بررسی باندهای حاصل از الکتروفورز RNAهای استخراج شده بر روی ژل آگارز (M: مارکر مولکولی 100 kb، 1-10: نمونه های RNA مورد بررسی)

ارزیابی بیان ژن VEGF

بررسی بیان VEGF در سلول های تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره های کلروفرم، متانولی و هیدروالکلی نشان دهنده‌ی کاهش بیان این ژن بود. همچنین در هر سه عصاره‌ی مورد بررسی، کاهش بیان در یک حالت وابسته به دوز اتفاق افتاد که در غلظت های بالاتر عصاره، میزان کاهش بیان ژن، بیشتر بود. بیان VEGF در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر عصاره هیدروالکلی و غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر هر سه عصاره، از نظر آماری نسبت به کنترل به طور معناداری کاهش یافته بود ($P<0.05$) (شکل ۲).



شکل ۲. بررسی بیان ژن **VEGF** در سلول های **SW742** تیمار شده با غلظت های مختلف عصاره *Sargassum tenerrimum* که نشان دهنده ی کاهش بیان این ژن تحت اثر عصاره می باشد (*: تفاوت معنادار با گروه کنترل با حد معناداری **P<0.05**، **: تفاوت معنادار با گروه کنترل با حد معناداری **P<0.01**)

بحث

در تحقیق حاضر بیان VEGF در سلول‌های رده‌ی SW742 سرطان کولورکتال تحت اثر عصاره های مختلف جلبک *Sargassum tenerrimum* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان دهنده ی کاهش معنادار بیان VEGF در سلول‌های تیمار شده با غلظت های ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره هیدروالکلی و غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌های کلروفرمی و متانولی بود. این یافته ها تایید کننده‌ی پتانسیل ضد توموری عصاره‌ی جلبک *Sargassum tenerrimum* از طریق کاهش آنژیوژنز می باشد. در این میان به نظر می رسید که عصاره‌ی هیدروالکلی، عملکرد بهتری در کاهش بیان VEGF نسبت به دو عصاره ی دیگر دارد.

اثر ضد سرطانی عصاره ی جلبک سارگاسوم و ترکیبات جدا شده از آن بر روی سرطان روده در تحقیقات دیگری نیز بررسی و گزارش شده است. Somasundaram و همکاران (۲۰۱۶) فوکوئیدان را از گونه ی سارگاسوم سینرئوم جداسازی کرده و نشان دادند که این ترکیب موجب مرگ سلول های رده ی HCT-15 سرطان کولون می گردد (۲۳). فوکوئیدان های دپلیمریزه شده ی *Sargassum tenerrimum* در تحقیق عشایری زاده و همکاران (۲۰۲۰) از خود اثر آنتی اکسیدانی نشان دادند (۲۴). همچنین Vasanthi و همکاران (۲۰۲۰) نیز در شرایط in vitro فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های آبی و الکلی گونه های سارگاسوم را بررسی کرده و گزارش کردند که از میان عصاره های مربوط به گونه های مختلف سارگاسوم، عصاره ی آبی *Sargassum tenerrimum* دارای پتانسیل آنتی اکسیدانی بالایی می باشد (۲۵). Satyajit و همکاران (۲۰۱۵) اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌توموری عصاره‌ی اتانولی *Sargassum tenerrimum* را در موش مبتلا به کارسینوم آسیت ارلیخ[1] بررسی کردند. نتایج حاصل نشان داد که پارامترهایی مانند وزن بدن، حجم تومور، تعداد سلول‌های تومور، میانگین زمان بقا و افزایش طول عمر در حیوانات تحت تیمار با دوز 300 میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره نسبت به گروه کنترل تغییر کرده بود. همچنین تفاوت‌های قابل توجهی در محتوای پروتئین کل، محتوای آنزیم‌های کبدی، سطح مالون دی‌آلدهید و آنزیم‌های مهارکننده رادیکال‌های آزاد در حیوانات گروه تحت تیمار با عصاره مشاهده شد. این مشاهدات عصاره *Sargassum tenerrimum* را به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدانی موثر با فعالیت ضد توموری قابل توجه مطرح می‌کرد (۲۶). حضور آلکالوئیدهای Ephedrine، Cuscohygrine، Pyrvinium و Doxapram در عصاره‌ی کلروفرمی *Sargassum tenerrimum* گزارش شده است (۲۷). فوکوزانتین و آستازانتین نیز از دیگر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در *Sargassum tenerrimum* هستند که پتانسیل آنتی‌توموری آن را افزایش می‌دهند (۲۸).

در رابطه با اثر عصاره‌ی جلبک سارگاسوم بر آنژیوژنز نیز مطالعاتی انجام شده است. از جمله jin و همکاران (۲۰۱۹) فعالیت ضد سرطانی و ضد آنژیوژنز گالاکتوفوکان[2] سولفاته جدا شده از *Sargassum thunbergii* را بررسی کرده و نشان دادند که این ترکیب دارای اثرات ضد توموری بر روی رده‌ی سلولی A549 سرطان ریه و اثرات آنتی‌آنژیوژنیک بر روی سلول‌های HUVEC هستند (۲۹). فوکوئیدان موجود در *Sargassum fusiforme* نیز به عنوان یک ترکیب آنتی-آنژیوژنیک برای سلول های HMEC-1 در یک حالت وابسته به دوز معرفی شده است (۳۰). Ou و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که یک پلی ساکارید موجود در *Sargassum thunbergii* با کاهش فعالیت MMP-2 و مسیر سیگنالینگ VEGF/HIF-1α موجب مهار رگ زایی در سلول های رده ی A549 می گردد (۳۱). پلی ساکاریدهای *Sargassum fusiforme* نیز با مهار آنژیوژنز وابسته به VEGF-A در سرطان ریه در شرایط in vitro (رده ی سلولی SPC-A-1) و in vivo دارای خاصیت ضد سرطانی می باشند (۳۲). در مطالعه ی دیگری خواص آنتی آنژیوژنیک و آنتی توموری عصاره ی اتانولی *Sargassum wightii* بر روی سلول های سرطانی استئوسارکوم از طریق کاهش بیان VEGF گزارش شده است (۳۳).

[1] Ehrlich Ascites Carcinoma

[2] Galactofucan

نتیجه گیری

با توجه به تحقیقات انجام شده و نتایج تحقیق حاضر به نظر می‌رسد که سارگاسوم ها دارای ترکیبات زیستی موثری جهت کاهش بیان VEGF و کاهش آنژیوژنز هستند که به آن ها پتانسیل ضد توموری می بخشد. با توجه به جستجوی انجام شده در پایگاه داده تا کنون اثر عصاره ی *Sargassum tenerrimum* بر بیان VEGF در سلول‌های SW742 بررسی نشده و در تحقیق حاضر برای اولین بار گزارش می شود که عصاره های متانولی، هیدروالکلی و کلروفرمی جلبک *Sargassum tenerrimum* در غلظت های ۷۵۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر موجب کاهش معنادار بیان VEGF در سلول های مورد مطالعه در یک حالت وابسته به دوز می شوند. همچنین عصاره‌ی هیدروالکلی در غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر نیز قادر به کاهش معناداری بیان VEGF بود. لذا این عصاره ها به عنوان ترکیبات دارای پتانسیل آنتی آنژیوژنیک معرفی می گردند که شناخت عملکرد دقیق و کاربرد آن ها در درمان سرطان نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. از نقاط ضعف مطالعه ی حاضر می توان به عدم بررسی سمیت سلولی عصاره در سلول های سالم اشاره نمود که امید است در مطالعات آتی مورد بررسی قرار گیرد. همچنین پیشنهاد می گردد که در مطالعات آینده به بررسی اثر ترکیبات موجود در عصاره‌ی *Sargassum tenerrimum* همچون فوکوئیدان‌ها بر روی بیان VEGF در سلول های SW742 و سایر رده های سلولی سرطانی پرداخته شود.

ملاحظات اخلاقی

این تحقیق نیاز به مصوبه اخلاق در پژوهش نداشته است.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد .

منابع

1. Siegel RL , Miller KD, Jemal A. Cancer statistics , 2020. CA: a Cancer Journal for Clinicians 2020;70(1):7-30.
2. Siegel RL, Miller KD, Goding Sauer A, Fedewa SA, Butterly LF, Anderson JC, et al. Colorectal cancer statistics, 2020. CA: a Cancer Journal for Clinicians 2020;70(3):145-64.
3. Rafiemanesh H, Pakzad R, Abedi M, Kor Y, Moludi J, Towhidi F, et al. Colorectal cancer in Iran: Epidemiology and morphology trends. EXCLI Journal 2016;15:738-749.
4. Dolatkhah R, Somi MH, Bonyadi MJ, Asvadi Kermani I, Farassati F, Dastgiri S. Colorectal cancer in Iran: molecular epidemiology and screening strategies. Journal of Cancer Epidemiology 2015;2015.
5. Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. Przeglad Gastroenterologiczny 2019;14(2):89.
6. Lugano R, Ramachandran M, Dimberg A. Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. Cellular and Molecular Life Sciences 2020;77(9):1745-70.
7. Eelen G, Treps L, Li X, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis updated. Circulation Research 2020;127(2):310-29.
8. Teleanu RI, Chircov C, Grumezescu AM, Teleanu DM. Tumor angiogenesis and anti-angiogenic strategies for cancer treatment. Journal of Clinical Medicine 2020;9(1):84.
9. Di Benedetto P, Ruscitti P, Berardicurti O, Panzera N, Grazia N, Di Vito Nolfi M, et al. Blocking Jak/STAT signalling using tofacitinib inhibits angiogenesis in experimental arthritis. Arthritis Research & Therapy 2021;23(1):1-12.
10. Melincovici CS, Boşca AB, Şuşman S, Mărginean M, Mihu C, Istrate M, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-key factor in normal and pathological angiogenesis. Romanian

Journal of Morphology and Embryology 2018;59(2):455-467.
11. Alves C, Silva J, Pinteus S, Gaspar H, Alpoim MC, Botana LM, et al. From marine origin to therapeutics: The antitumor potential of marine algae-derived compounds. Frontiers in Pharmacology 2018;9:777.
12. Mandrekar VK, Gawas UB, Majik MS. Brominated Molecules From Marine Algae and Their Pharmacological Importance. Studies in Natural Products Chemistry. 61: Elsevier 2019; 461-90.
13. Menaa F, Wijesinghe U, Thiripuranathar G, Althobaiti NA, Albalawi AE, Khan BA, et al. Marine Algae-Derived Bioactive Compounds: A New Wave of Nanodrugs? Marine Drugs 2021;19(9):484.
14. Kiruba NJM, Pradeep MA, Thatheyus AJ. Discovering promising anti-cancer drug candidates from marine algae. Science International 2018;6:44-50.
15. Yip ZT, Quek RZ, Low JK, Wilson B, Bauman AG, Chou LM, et al. Diversity and phylogeny of Sargassum (Fucales , Phaeophyceae) in Singapore. Phytotaxa 2018;369(3):200-10.
16. Yende SR, Harle UN, Chaugule BB. Therapeutic potential and health benefits of Sargassum species. Pharmacognosy Reviews 2014;8(15):1.
17. Generalić Mekinić I, Skroza D, Šimat V, Hamed I, Čagalj M, Popović Perković Z. Phenolic content of brown algae (Pheophyceae) species: Extraction , identification , and quantification. Biomolecules 2019;9(6):244.
18. Milledge JJ, Nielsen BV, Harvey PJ. The inhibition of anaerobic digestion by model phenolic compounds representative of those from Sargassum muticum. Journal of Applied Phycology 2019;31(1):779-86.
19. Bellinger E, Sigee D. A key to the more frequently occurring freshwater algae. Freshwater Algae 2010:137-244.
20. Gharanjik BM, Ghadikalaei KM. Atlas of Seaweeds on the Persian Gulf and Oman Seas. Iran Fisheries Research Institute 2012; 123-125.
21. Barbarino E, Lourenço SO. An evaluation of methods for extraction and quantification of protein from marine macro-and microalgae. Journal of Applied Phycology 2005;17(5):447-60.
22. Hellio C, Berge JP, Beaupoil C, Le Gal Y, Bourgougnon N. Screening of marine algal extracts for anti-settlement activities against microalgae and macroalgae. Biofouling 2002;18(3):205-15.
23. Somasundaram SN, Shanmugam S, Subramanian B, Jaganathan R. Cytotoxic effect of fucoidan extracted from Sargassum cinereum on colon cancer cell line HCT-15. International Journal of Biological Macromolecules 2016;91:1215-23.
24. Ashayerizadeh O, Dastar B, Pourashouri P. Study of antioxidant and antibacterial activities of depolymerized fucoidans extracted from Sargassum tenerrimum. International Journal of Biological Macromolecules 2020;151:1259-66.
25. Vasanthi C, Appa Rao V, Narendra Babu R, Sriram P, Karunakaran R. In-vitro antioxidant activities of aqueous and alcoholic extracts of Sargassum species—Indian brown seaweed. Journal of Food Processing and Preservation 2020;44(11):e14877.
26. Patra S, Muthuraman MS, Prabhu A, Priyadharshini RR, Parthiban S. Evaluation of antitumor and antioxidant activity of Sargassum tenerrimum against Ehrlich ascites carcinoma in mice. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 2015;16(3):915-21.
27. Chitari S, Dias P, Barros U. Report on the identification of alkaloids from Sargassum tenerrimum. Seaweed Research and Utilisation 2018; 40(2):1-6.
28. Waghmode A, Narayankar C, Nimbalkar M, Gaikwad D. Exploration of fucoxanthin and astaxanthin in macro alga (Sargassum sp.) by high-performance liquid chromatography. Indian Hydrobiology 2019; 18(1 ,2):40–49.
29. Jin W, Wu W, Tang H, Wei B, Wang H, Sun J, et al. Structure analysis and anti-tumor and anti-angiogenic activities of sulfated galactofucan extracted from Sargassum thunbergii. Marine Drugs 2019;17(1):52.
30. Cong Q, Chen H, Liao W, Xiao F , Wang P, Qin Y, et al. Structural characterization and effect on anti-angiogenic activity of a fucoidan from Sargassum fusiforme. Carbohydrate Polymers 2016;136:899-907.

31. Ou M, Sun X, Liang J, Liu F, Wang L, Wu X, et al. A polysaccharide from Sargassum thunbergii inhibits angiogenesis via downregulating MMP-2 activity and VEGF/HIF-1α signaling. International Journal of Biological Macromolecules 2017;94:451-8.
32. Chen H, Zhang L, Long X, Li P, Chen S, Kuang W, et al. Sargassum fusiforme polysaccharides inhibit VEGF-A-related angiogenesis and proliferation of lung cancer in vitro and in vivo. Biomedicine & Pharmacotherapy 2017;85:22-7.
33. Yu QL, Tang ZC, Li JG, Wang GL, Wang PJ, Pan ZB. Anti-cancer and anti-angiogenesis effect of the leaf extract of Sargassum wightii against osteosarcoma cancer cells. Bangladesh Journal of Pharmacology 2015;10(2):351-57.