

بررسی اثرات موکوس شقایق دریایی (*Stichodactyla haddoni*) بر رده

سلولی PC3 سرطان پروستات

الهام عبدزاده^۱، بهروز حیدری^{۱*}، مهوش هادوی^۱، حسین غفوری^۱

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
 ۲. گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پروستات یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌های سیستم ادراری مردان و هم‌چنین دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در مردان است. در مطالعه حاضر اثرات موکوس شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni* بر میزان بقای سلول‌های سرطانی پروستات (PC3) مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه نیمه تجربی، نمونه‌برداری از شقایق دریایی به صورت تصادفی و با استفاده از کلید شناسایی صورت گرفت. سپس تغلیظ موکوس خام بدست آمده از شقایق دریایی *S. haddoni* با استفاده از استون انجام شد. سلول‌های رده سرطانی PC3 با غلظت‌های مختلف موکوس خام (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ میکروگرم بر میلی-لیتر) و داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین (۰/۰۶، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به‌عنوان شاهد مثبت به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار شدند. اثر تیمارها بر میزان بقای سلولی با استفاده از تست MTT ارزیابی شد. میزان IC50 ۲۴ و ۴۸ ساعته تیمارها محاسبه گردید.

نتایج: اثرات موکوس خام شقایق دریایی *S. haddoni* بر رشد سلول‌های PC3 با افزایش دوز و زمان درمان (۲۴ و ۴۸ ساعت) افزایش یافت. داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین در غلظت‌های مختلف بیشترین سمیت سلولی را نشان داد ($P=0/001$) که این اثر با غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر موکوس خام برابر بود ($P=0/082$). غلظت‌های ۱۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر موکوس خام و هم‌چنین ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر دوکسوروبیسین منجر به کشتن کامل سلول‌های PC3 بعد از ۴۸ ساعت شدند ($P=0/001$).

نتیجه‌گیری: موکوس خام مستخرج از شقایق دریایی *S. haddoni* دارای اثرات سمیت سلولی و مهارت رشد بر سلول‌های سرطانی PC3 می‌باشد. بنابراین احتمالاً می‌توان از آن به‌عنوان نامزد مناسبی برای استخراج داروهای ضدسرطان استفاده نمود.

کلید واژه‌ها:

سم مرجانیان، سرطان پروستات، شقایق دریایی

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه محفوظ است.

مقدمه

پوشش موکوسی سراسر بدن وجود دارد و به منظور دفاع و شکار مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱، ۲). سم شقایق دریایی حاوی انواع ترکیبات پروتئینی (پپتیدها و پروتئین‌ها) و مواد غیر پروتئینی (مانند پورین‌ها، ترکیبات آمونیم، آمین‌های بیوژنیک) می‌باشد (۳). به‌طور کلی سموم پروتئینی به سه گروه اصلی نوروتوکسین‌ها (توکسین‌های کانال‌های سدیمی و پتاسیمی

موجودات دریایی منبع غنی از محصولات طبیعی زیست‌فعال هستند. شقایق دریایی از شاخه مرجانیان یکی از قدیمی‌ترین و سمی‌ترین موجوداتی است که دارای انواع سموم پپتیدی و پروتئینی با خاصیت سیتولیتیک، نوروتوکسیک و ضدسرطانی می‌باشند (۱). این سموم در سلول تخصص یافته‌ای به نام نماتوسیت که مشخصه این جانوران می‌باشد و هم‌چنین در

*آدرس نویسنده مسئول: رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

آدرس پست الکترونیک: bheidari@guilan.ac.ir

پرتودرمانی و هورمون درمانی اغلب با عوارض جانبی مانند کاهش میزان بقا، مقاومت دارویی ضعیف، عوارض نورولوژیک و خونی همراه می‌باشد. با توجه به اینکه اثرات ضدسرطانی ترکیبات زیست‌فعال بدست آمده از موجودات دریایی مکررا به اثبات رسیده است بنابراین دستیابی به شیوه‌های درمانی جدید با کشف ترکیبات زیست‌فعال موثرتر و با کارایی بالاتر که دوز مصرفی و عوارض جانبی ناشی از داروهای شیمی درمانی را کاهش می‌دهد امری ضروری است. بدین منظور، شناسایی و تخلیص ترکیبات زیست‌فعال موجودات دریایی به‌عنوان یک منبع عظیم دارویی و کشف مکانیزم‌های اثر آن جهت درمان سرطان‌ها از جمله سرطان پروستات امیدوار کننده است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات موکوس شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni* بر سلول‌های سرطانی پروستات (PC3) می‌باشد.

روش‌ها

نمونه برداری

نمونه برداری شقایق دریایی *S. haddoni* از ساحل شرقی جزیره هرمز انجام گرفت. در یک جزر کامل، ۶ نمونه از این گونه از منطقه بین جزر و مدی از بستر جدا و جمع‌آوری شد (شکل ۱). شناسایی نمونه‌ها با استفاده از کلید شناسایی صورت گرفت (۱۳). موکوس خام با استفاده از تکنیک ماساژ دادن (mincing and milking) جمع‌آوری شد (۱۴). بدین ترتیب که نمونه‌ها به ظرف پلاستیکی منتقل و به آرامی ماساژ داده شدند (شکل ۲). موکوس خام بعد از ترشح سریع جمع‌آوری و با تانک ازت به آزمایشگاه منتقل شد. پس از سانتریفیوژ (دور ۳۲۰۰، دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه) محلول روئی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

تغلیظ و سنجش میزان پروتئین کل موکوس خام

تغلیظ پروتئین موکوس خام با استفاده از استون جهت حذف ترکیبات ناخواسته انجام شد (۱۵). بدین ترتیب چهار برابر حجم نمونه، استون سرد به آن اضافه و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای

وابسته به ولتاژ)، سیتولیزین‌ها (سموم منفذساز مانند اکتینوپورین‌ها)، سموم با خاصیت فسفولیپازی A2 تقسیم می‌شوند (۱). همچنین سیتولیزین‌ها را می‌توان بر اساس وزن مولکولی به چهار گروه تقسیم کرد. پپتیدهای ۵-۸ کیلو دالتون با فعالیت آنتی‌هیستامین، پروتئین ۲۰ کیلو دالتونی منفذساز، سیتولیزین ۳۰-۴۰ کیلو دالتون و سیتولیزین ۸۰ کیلو دالتون (۴). سرطان یکی از علل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است و شیوع آن روز به روز در حال افزایش می‌باشد. پیش‌بینی شده است که سرطان اولین و مهم‌ترین عامل مرگ در سال ۲۰۳۰ خواهد بود (۵، ۶). سرطان پروستات یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌های سیستم ادراری مردان و همچنین دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان بعد از سرطان ریه در مردان است (۶-۸). در سال ۲۰۱۳، ۱/۴ میلیون مرد مبتلا به سرطان پروستات و ۲۹۳۰۰۰ مرگ‌ومیر در سراسر جهان گزارش شده است (۹).

چندین مطالعه درخصوص اثرات ترکیبات زیست‌فعال بدست آمده از شقایق دریایی بر سلول‌های سرطانی انجام شده است. در پژوهشی اثرات مهار پیپتید ضدتوموری AAP-H مستخرج از شقایق دریایی *Anthopleura anjuna* بر سلول‌های سرطانی پروستات DU-145 مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بیانگر کاهش تعداد سلول‌های زنده و افزایش مرگ‌ومیر آن‌ها در حالت وابسته به دوز و زمان بود (۱۰). در پژوهش دیگری اثرات مهار پیپتید APETx4 بدست آمده از شقایق دریایی *Anthopleura elegantissima* بر سلول‌های سرطانی پروستات LNCaP توسط محققان گزارش شد (۱۱). پپتیدهای تخلیص شده از سم شقایق دریایی *Anemonia viridis* منجر به مهار رشد و تکثیر سلول‌های آدنوکارسینوم پروستات انسانی (PC3) شد (۱۲).

سرطان پروستات یکی از اختلالات تهدیدکننده زندگی مردان است. در سال‌های اخیر، میزان بروز و مرگ و میر سرطان پروستات در کشورهای غربی و آسیا افزایش یافته است. روش‌های درمانی معمول مانند جراحی، شیمی‌درمانی،



شکل ۱. محل نمونه برداری

شکل ۲. شقایق دریایی *S. haddoni*

۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. محلول روئی پس از سانتریفیوژ (دور ۱۳۰۰۰، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه) خارج شد و ۳۰ دقیقه زمان داده شد تا استون تبخیر شود. سپس رسوب پروتئینی توسط محلول نمکی بافر فسفات (PBS) حل شد و نهایتاً فریزدرای گردید. در مرحله بعد میزان پروتئین کل موکوس خام با استفاده از روش لوری اندازه گیری شد (۱۶).

کشت سلول

رده سلولی سرطانی آدنوکارسینومای پروستات PC3 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد (NCBI Code: C427). سلول‌ها در پلیت ۹۶ خانه‌ای با محیط کشت RPMI1640 (Bio-Idea, Houston, TX) حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاو (Fetal Bovine Serum, Gibco, Carlsbad, CA) و ۱٪ آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین (Bio-Idea,

Houston, TX) کشت و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد با دی‌اکسیدکربن ۵٪ و رطوبت ۹۵٪ نگهداری شدند.

سنجش سمیت سلولی

به منظور بررسی اثرات سمیت سلولی موکوس خام شقایق دریایی *S. haddoni* از تست رنگ سنجی MTT (3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) استفاده شد. این روش براساس توانایی سلول زنده در تبدیل نمک زرد تترازولیوم محلول به بلورهای فورمازان بنفش نامحلول است. ابتدا میزان ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی، حاوی ۱۰۰۰۰ سلول به همراه محیط کشت RPMI1640، در هرکدام از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای (۳۷ درجه سانتی‌گراد، دی‌اکسیدکربن ۵٪) کشت داده شد. پس از مدت زمان ۲۴ ساعت، محیط کشت رویی خارج و میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت تازه حاوی غلظت‌های مختلف پروتئین کل ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آمده از موکوس خام با ۳

بین میزان بقای سلول‌ها در گروه شاهد و تیمارها در زمان ۲۴ ساعت اختلاف معنی دار وجود داشت ($P=0/001$) (شکل ۳). علیرغم وجود روند نزولی بین غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و همچنین، ۶۰ و ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مدت زمان ۲۴ ساعت از نظر آماری اختلاف معنی دار مشاهده نشد ($P=0/074$). میزان زیستایی سلول‌ها در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در زمان ۲۴ ساعت نسبت به سایر تیمارها و کنترل کاهش محسوسی نشان داد ($P=0/032$). بین غلظت‌های ۱۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر موکوس و ۰/۰۶، ۰/۲۵، ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین در مدت زمان ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($P=0/074$) (شکل ۳).

میزان سمیت سلولی موکوس‌خام با افزایش غلظت تیمارها در مدت زمان ۴۸ ساعت افزایش یافت (شکل ۳). کاهش بقای سلول‌ها در غلظت‌های ۱۲۰-۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نظر آماری معنی‌دار بود ($P=0/023$). بین غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر موکوس و ۰/۰۶، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر دوکسوروبیسین به ترتیب در مدت زمان ۴۸ ساعت از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید ($P=0/082$)، (شکل ۳).

به طور کلی نتایج تست MTT نشان داد با افزایش غلظت اثر داده شده موکوس‌خام بر سلول‌های PC3، به طور معناداری بقای سلول‌ها کاهش می‌یابد (شکل ۳). بین زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت در تیمارها از نظر مهار رشد سلولی تفاوت وجود داشت ($P=0/042$). کاهش بقای سلول‌ها با افزایش غلظت در مدت زمان ۴۸ ساعت نسبت به ۲۴ ساعت بیشتر بود. داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین در غلظت‌های مختلف بیشترین سمیت سلولی را نشان داد که این اثر مشابه غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر موکوس‌خام بود ($P=0/082$) (شکل ۳). میزان IC50 در مهار رشد سلولی در زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار به ترتیب ۸۳/۳ و ۲۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

بار تکرار به چاهک‌ها اضافه گردید. پس از گذشت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت، محیط کشت روئی خارج و ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت جدید حاوی ۱۰ میکرولیتر محلول MTT به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۴ ساعت انکوباسیون (۳۷ درجه سانتی‌گراد، دی‌اکسیدکربن ۵٪) صورت گرفت. به منظور حل کردن بلورهای فورمازان میزان ۵۰ میکرولیتر محلول DMSO (DMSO, 99.5%; Sigma, St. Louis, USA) به هر کدام از چاهک‌ها افزوده و پلیت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی به آرامی تکان داده شد و در طول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه قرائت خوان الایزا خوانده شد. با استفاده از فرمول زیر درصد حیات سلول‌ها در غلظت‌های مختلف محاسبه گردید.

$100 \times (\text{جذب نوری سلول‌های کنترل} / \text{جذب نوری سلول‌های تیمار شده}) = \text{میزان بقای سلولی}$

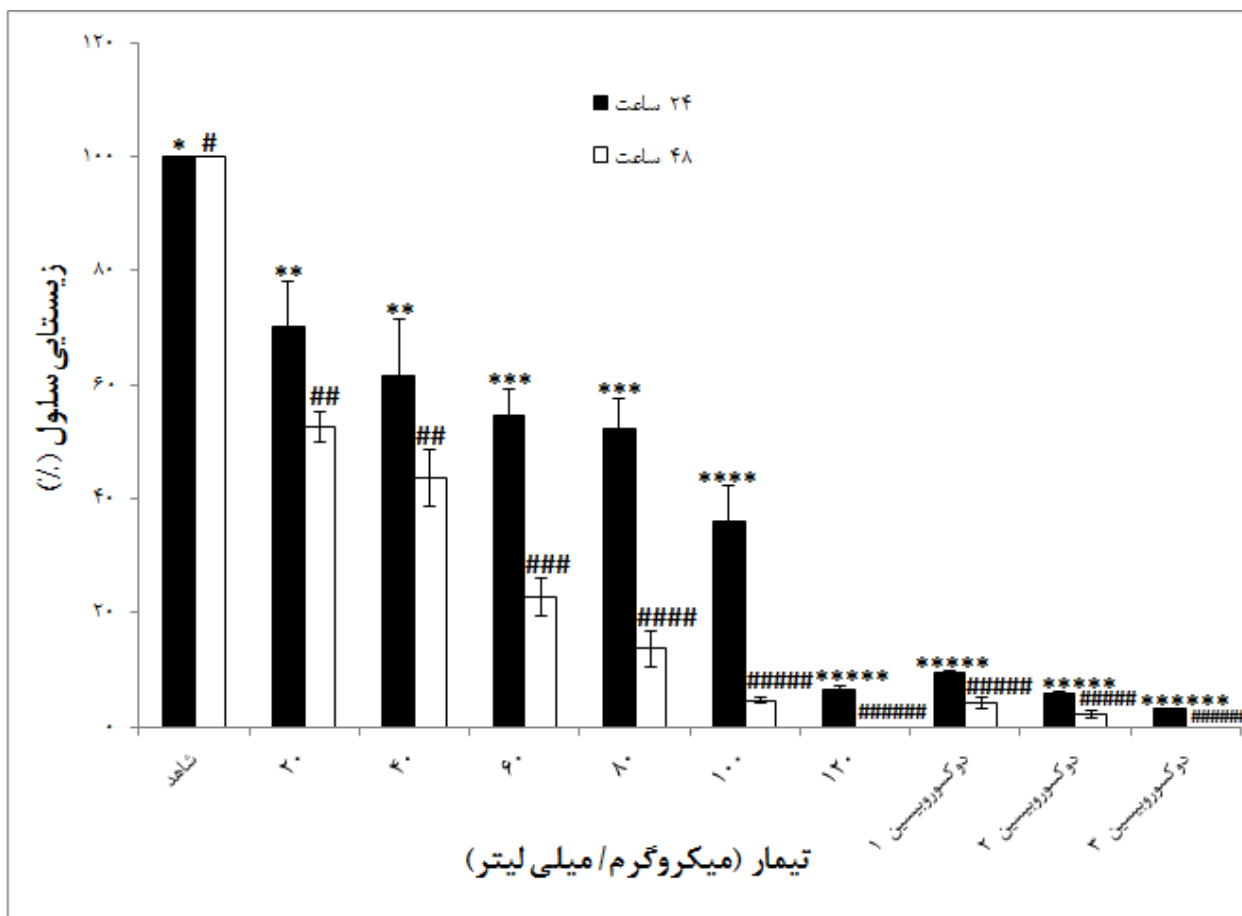
داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین (غلظت‌های ۰/۰۶، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به عنوان شاهد مثبت و همچنین سلول‌های حاوی محیط کشت بدون تیمار به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. به علاوه غلظتی از موکوس‌خام که منجر به مهار رشد ۵۰٪ از سلول‌ها شد به عنوان IC50 (half maximal inhibitory concentration) در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری

داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند و آزمایش با ۳ بار تکرار انجام شد. جهت رسم نمودارها از نرم افزار اکسل مجموعه آفیس استفاده شد. پراکنش نرمال داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیروف سنجش شد. سپس، داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰، آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (One way-ANOVA) و دوطرفه (-Two way-ANOVA) تحلیل شدند. نهایتاً، جهت مقایسه میانگین‌ها از پس-آزمون Tukey's HSD با سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد.

نتایج

محتوای پروتئینی موکوس‌خام ۱۵۸۵ میکروگرم در یک میلی‌گرم پودر خشک موکوس بدست آمد. نتایج تست MTT نشان داد



شکل ۳. اثر غلظت‌های مختلف موکوس خام (۱۲۰-۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و دوکسوروبیسین (۰/۰۶، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر بقای سلول‌های PC3 در مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت. (*) نشان دهنده ارتباط بین تیمارهای ۲۴ ساعته و (#) نشان دهنده ارتباط بین تیمارهای ۴۸ ساعته می باشد. تعداد سمل‌ها در هر ستون متناسب با سطح معناداری می باشد ($P < 0/05$).

بحث

کشتن کامل سلول‌های PC3 پس از گذشت ۴۸ ساعت شد که مشابه اثر دوکسوروبیسین به‌عنوان داروی ضدسرطان در مهار رشد سلول‌ها بود.

در پژوهشی اثرات مهارتی پپتید ضدتوموری AAP-H مستخرج از شقایق دریایی *Anthopleura anjuna* را بر سلول‌های سرطانی پروستات DU-145 مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بیانگر کاهش تعداد سلول‌های زنده و افزایش مرگ و میر آن‌ها در حالت وابسته به دوز و زمان بود. هم‌چنین مقدار IC_{50} پپتید ضدتوموری به ترتیب ۹/۶۰۵، ۷/۹۷۰ و ۲/۲۹۸ میلی‌مولار در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت محاسبه شد (۱۰). در پژوهش دیگری اثرات سمیت سلولی وابسته به دوز پپتید APETx4 بدست آمده از شقایق دریایی *Anthopleura elegantissima* بر

امروزه، سرطان به‌عنوان یکی از عوامل اصلی مرگ و میر، به یکی از بزرگترین چالش‌های علوم پزشکی و دارویی تبدیل شده است. لذا در دهه‌های اخیر محیط زیست دریایی به‌عنوان یک منبع غنی از فرآورده‌های طبیعی با کاربردهای درمانی گسترده، مورد توجه قرار گرفته است. بسیاری از پپتیدهای زیست فعال با اثرات ضدسرطانی، از موجودات دریایی مختلف استخراج شده است که به مراتب، کارآمدتر و با عوارض جانبی کمتر از ترکیبات ضدسرطانی موجود می‌باشند (۱۷). در مطالعه حاضر اثرات مهارتی موکوس خام شقایق دریایی *S. haddoni* بر رشد سلول‌های PC3 با افزایش دوز و زمان درمان (۲۴ و ۴۸ ساعت) افزایش یافت. هم‌چنین حضور ترکیبات زیستی فعال موجود در موکوس خام در غلظت ۱۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر منجر به

بر روی بافت‌های خاص، به‌عنوان عناصر ضد توموری مورد توجه قرار گرفته‌اند (۲۶).

در پژوهش حاضر به نظر می‌رسد اثرات سمیت سلولی موکوس خام به واسطه اثر سیتولیزین‌ها بر غشا سلول‌های PC3 باشد. بنابراین با توجه به نتایج این پژوهش موکوس خام شقایق دریایی *S. haddoni* می‌تواند به‌عنوان نامزد مناسبی جهت استخراج داروهای ضدسرطان مورد توجه قرار گیرد.

محدودیت در تعداد نمونه‌برداری از شقایق‌های دریایی به دلیل رعایت مسائل زیست‌محیطی و همچنین اجتناب از وارد نمودن هرگونه گزند و آسیب به جامعه شقایق‌های دریایی و زیستگاه طبیعی آن‌ها از محدودیت‌های مطالعه حاضر بود. با توجه به مطالعات پیشین که بر گونه‌های مختلف شقایق دریایی در زیستگاه‌های مختلف صورت گرفته است، استفاده از گونه *S. haddoni* حاضر در خلیج فارس از نقاط قوت این مطالعه به شمار می‌رود. به منظور بکارگیری نتایج حاصل از مطالعه حاضر پیشنهاد می‌گردد اثرات ضدسرطانی بخش‌های مختلف شقایق دریایی *S. haddoni* هم‌چون موکوس، صفحه‌دهانی و عصاره خام حاصل از کل بدن به‌صورت مقایسه‌ای بر رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی سنجیده شود تا ضمن دستیابی به موثرترین بخش، جهت بررسی اثرات جانبی آن با سلول‌های نرمال انسانی مورد آزمایش قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد موکوس خام مستخرج از شقایق دریایی *S. haddoni* دارای اثرات سمیت سلولی و مهارتی رشد بر سلول‌های سرطانی PC3 است. به طوری‌که مرگ کامل سلول‌ها در غلظت ۱۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از موکوس بعد از مدت زمان ۴۸ ساعت مشاهده شد. میزان سمیت سلولی موکوس خام مشابه اثر داروی ضد سرطان دوکسوروبیسین بود. امید است که استخراج ترکیبات زیست‌فعال موکوس *S. haddoni* منجر به کشف داروهای ضد سرطان جدیدتر و موثرتر شود.

سلول‌های سرطانی پروستات LNCaP گزارش شد (۱۱). محققان با مطالعه بر فرکشن‌های تخلیص شده شقایق دریایی *Anemonia viridis* به اثرات سمیت سلولی و مهارت‌کنش سلول‌های آدنوکارسینوم پروستات انسانی (PC3) پی بردند و همچنین گزارش کردند غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از فرکشن IV تخلیص شده منجر به کشتن کامل سلول‌ها بعد از ۲۴ ساعت شد در حالی‌که اثرات سمیتی شدیدتر در دوز پایین‌تر بعد از ۴۸ ساعت مشاهده شد (۱۲). برخلاف پژوهش‌های انجام شده که به بررسی اثرات ضدسرطانی پپتیدها و عصاره حاصل از کل بدن شقایق‌های دریایی پرداخته است (۱۱، ۱۲)، در مطالعه حاضر سعی شده است اثرات سمیتی و کشندگی موکوس مترشحه حاصل از شقایق دریایی *S. haddoni* مورد بررسی قرار گیرد. درحالی‌که تفاوت در جنس مورد مطالعه وجه تمایز دیگر این پژوهش با سایرین به‌شمار می‌رود. همچنین اثرات ضدسرطانی سموم پپتیدی تولید شده توسط شقایق‌های دریایی بر رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی مانند A549 (سرطان ریه)، MCF7 و T47D (سرطان پستان)، A431 (سرطان پوست) (۱۸-۲۰)، HL-60 (لوسمی میلو سیت)، CEM (لوسمی لنفوبلاست)، MDA-MB-231 و MDA-MB-134 (کارسینوما پستان) (۲۱، ۲۲)، A172 و U87 (گلیوبلاستوما انسانی) (۲۳) گزارش شده است. در مطالعه حاضر میزان IC50 موکوس-خام شقایق دریایی *S. haddoni* به ترتیب ۸۳/۳ و ۳۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد که نشان دهنده اثرات سمیتی شدیدتر با دوز پایین‌تر در زمان ۴۸ ساعت نسبت به ۲۴ ساعت می‌باشد.

سیتولیزین‌ها شامل ۴ خانواده پروتئینی با وزن مولکولی ۵ تا ۸۰ کیلو دالتون هستند (۱، ۲) و به‌نظر می‌رسد در سموم همه مرجانیان وجود داشته باشند (۲۴).

یک ویژگی اساسی سیتولیزین‌ها توانایی آن‌ها در ایجاد منافذ در غشاهای سلولی است که منجر به تغییر اسمزی و از دست دادن متابولیت‌های داخل سلولی و سرانجام مرگ سلول می‌شود (۲۵). بنابراین به دلیل خاصیت لیزکنندگی و امکان اثر آن‌ها

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه همکاران آزمایشگاه بیولوژی دانشکده علوم- پایه دانشگاه گیلان نهایت تشکر و سپاسگزاری را دارم. پژوهش حاضر مستخرج از پایان نامه دکتری با کد ۹۳۶۱ می باشد.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ گونه تعارض منافی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

مشارکت نویسندگان:

- (۱) مفهوم پردازی و طراحی مطالعه، یا جمع آوری داده ها، یا تجزیه و تحلیل و تفسیر داده ها: بهروز حیدری (مفهوم پردازی و طراحی مطالعه)، الهام عبدزاده (جمع آوری داده ها یا تجزیه و تحلیل و تفسیر داده ها)، مهوش هادوی و حسین غفوری (طراحی مطالعه یا تجزیه و تحلیل و تفسیر داده ها)
- (۲) تهیه پیش نویس مقاله یا بازبینی آن جهت تدوین محتوای اندیشمندانه: الهام عبدزاده و بهروز حیدری
- (۳) تایید نهایی دستنوشته پیش از ارسال به مجله: بهروز حیدری

References

1. Frazão B, Vasconcelos V, Antunes A. Sea anemone (Cnidaria, Anthozoa, Actiniaria) toxins: an overview. *Marine drugs*. 2012;10(8):1812-51.
2. Anderluh G, Macek P. Cytolytic peptide and protein toxins from sea anemones (Anthozoa: Actiniaria). *Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology*. 2002;40(2):111-24.
3. Martins RD, Alves RS, Martins AM, Barbosa PS, Evangelista JS, Evangelista JJ, et al. Purification and characterization of the biological effects of phospholipase A(2) from sea anemone *Bunodosoma caissarum*. *Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology*. 2009;54(4):413-20.
4. Suput D. In vivo effects of cnidarian toxins and venoms. *Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology*. 2009;54(8):1190-200.
5. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer*. 2015;136(5):E359-E86.
6. Hassanipour-Azgomi S, Mohammadian-Hafshejani A, Ghoncheh M, Towhidi F, Jamehshorani S, Salehiniya H. Incidence and mortality of prostate cancer and their relationship with the Human Development Index worldwide. *Prostate international*. 2016;4(3):118-24.
7. Hassanipour S, Fathalipour M, Salehiniya H. The incidence of prostate cancer in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Prostate international*. 2018;6(2):41-5.
8. Beltran H, Beer TM, Carducci MA, de Bono J, Gleave M, Hussain M, et al. New therapies for castration-resistant prostate cancer: efficacy and safety. *European urology*. 2011;60(2):279-90.
9. Fitzmaurice C, Dicker D, Pain A, Hamavid H, Moradi-Lakeh M, MacIntyre MF, et al. The Global Burden of Cancer 2013. *JAMA oncology*. 2015;1(4):505-27.
10. Wu ZZ, Ding GF, Huang FF, Yang ZS, Yu FM, Tang YP, et al. Anticancer Activity of *Anthopleura anjunae* Oligopeptides in Prostate Cancer DU-145 Cells. *Marine drugs*. 2018;16(4).
11. Moreels L, Peigneur S, Galan DT, De Pauw E, Beress L, Waelkens E, et al. APETx4, a Novel Sea Anemone Toxin and a Modulator of the Cancer-Relevant Potassium Channel KV10.1. *Marine drugs*. 2017;15(9).
12. Bulati M, Longo A, Masullo T, Vlah S, Bennici C, Bonura A, et al. Partially Purified Extracts of Sea Anemone *Anemonia viridis* Affect the Growth and Viability of Selected Tumour Cell Lines. *BioMed research international*. 2016;2016:3849897.
13. Delfin J, Gonzalez Y, Diaz J, Chavez M. Proteinase inhibitor from *Stichodactyla helianthus*: purification, characterization and immobilization. *Archives of medical research*. 1994;25(2):199-204.
14. Sencic L, Macek P. New method for isolation of venom from the sea anemone *Actinia cari*. Purification and characterization of cytolytic toxins. *Comparative biochemistry and physiology B, Comparative biochemistry*. 1990;97(4):687-93.

15. Simpson DM, Beynon RJ. Acetone precipitation of proteins and the modification of peptides. *Journal of proteome research*. 2010;9(1):444-50.
16. Waterborg JH, Matthews HR. The lowry method for protein quantitation. *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ). 1984;1:1-3.
17. Sarfaraj M, Sheeba F, Saba A, Khan MS. Marine natural products: A lead for Anti-cancer. 2012. 27-39.
18. Ramezanpour M, da Silva KB, Sanderson BJ. The effect of sea anemone (*H. magnifica*) venom on two human breast cancer lines: death by apoptosis. *Cytotechnology*. 2014;66(5):845-52.
19. Ramezanpour M, da Silva KB, Sanderson BJ. Venom present in sea anemone (*Heteractis magnifica*) induces apoptosis in non-small-cell lung cancer A549 cells through activation of mitochondria-mediated pathway. *Biotechnology letters*. 2014;36(3):489-95.
20. Ramezanpour M, Burke da Silva K, Sanderson B. Differential susceptibilities of human lung, breast and skin cancer cell lines to killing by five sea anemone venoms. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 2012;18(2):157-63.
21. Avila AD, Mateo de Acosta C, Lage A. A new immunotoxin built by linking a hemolytic toxin to a monoclonal antibody specific for immature T lymphocytes. *International journal of cancer*. 1988;42(4):568-71.
22. Avila AD, Mateo de Acosta C, Lage A. A carcinoembryonic antigen-directed immunotoxin built by linking a monoclonal antibody to a hemolytic toxin. *International journal of cancer*. 1989;43(5):926-9.
23. Soletti RC, de Faria GP, Vernal J, Terenzi H, Anderluh G, Borges HL, et al. Potentiation of anticancer-drug cytotoxicity by sea anemone pore-forming proteins in human glioblastoma cells. *Anti-cancer drugs*. 2008;19(5):517-25.
24. Parker MW, Feil SC. Pore-forming protein toxins: from structure to function. *Progress in biophysics and molecular biology*. 2005;88(1):91-142.
25. Alvarez C, Mancheno JM, Martinez D, Tejuca M, Pazos F, Lanio ME. Sticholysins, two pore-forming toxins produced by the Caribbean Sea anemone *Stichodactyla helianthus*: their interaction with membranes. *Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology*. 2009;54(8):1135-47.
26. Li ZJ, Cho CH. Development of peptides as potential drugs for cancer therapy. *Current pharmaceutical design*. 2010; 6(10):1180-9.

Investigating the effects of Sea anemone (*Stichodactyla haddoni*) mucus on prostate cancer PC3 cell line

Elham Abdzadeh¹, Behrooz Heidari^{1,2*}, Mahvash Hadavi¹, Hossein Ghafouri¹

1. Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran

2. Department of Marine Science, Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, Iran

Corresponding author: bheidari@guilan.ac.ir

Abstract

Background & Aim: Prostate cancer (PCa) is one of the most common cancers of the male urinary system and is also the second leading cause of cancer deaths in men. In the present study, the effects of *Stichodactyla haddoni* on the viability of prostate cancer cells (PC3) were investigated.

Methods: In the semi experimental study, sea anemones were sampled at random using an identification key. Then concentration of crude mucus obtained from *S. haddoni* sea anemone was carried out by acetone. The PC3 cells treated with different concentrations of crude mucus (20, 40, 60, 80, 100 and 120 µg/ml) and Doxorubicin anticancer drug (0.06, 0.25 and 0.5 µg/ml) as a positive control for 24 and 48h. The effect of treatments on cell viability was evaluated using MTT assay. The IC50 of crude mucus was calculated after 24 and 48 h.

Results: The inhibitory effects of the crude mucus of *S. haddoni* was increased with the growth of PC3 cells with escalating the dosage and treatment time (24 and 48h). The Doxorubicin anticancer drug induced the highest cytotoxicity at different concentrations, which was similar to the concentration of 100 and 120 µg/ml of crude mucus.

Conclusion: The crude mucus of *S. haddoni* has cytotoxic and growth inhibitory effects on PC3 cancer cells, therefore, it can be considered as an appropriate candidate for the development of anticancer drugs.

Keywords:

Cnidarian Venoms,
Prostatic
Neoplasms,
Sea anemone

How to Cite this Article: Abdzadeh E, Heidari B, Hadavi M, Ghafouri H. Investigating the effects of Sea anemone (*Stichodactyla haddoni*) mucus on prostate cancer PC3 cell line. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2019;7(2):34-43.