مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد
سال دوازدهم ، شماره دوم ، تابستان ۱۳۸۳، ص ۸۰

بررسی تأثیر عصاره سیتوتوکسیک استخراج شده از باکتری استرپتومیسس گریزکولوآلبوس بر روی سلولهای سرطانی اپیدرموئید دهان انسان (KB)

دکتر شیلا صفائیان[۱] ، دکتر مهدی آسمار[۲] ، مهین فرهمند[۳]

چکیده

مقدمه: می دانیم که میکروارگانیسم‌های دریایی یکی از منابع بسیار مهم ترکیبات جدید محسوب می‌شوند. اکتینومیست‌ها از باکتری‌های گرم مثبت رشته‌ای هستند که در همه جا گسترده می‌باشند و نقش بسیار مهمی را در توسعه داروها به ویژه داروهای ضدسرطانی ایفا می‌نمایند.

روش بررسی: سویه دریایی باکتری استرپتومیسس گریزکولوآلبوس Streptomyces Griscoloalbus از مرجان نرم Erecta Sinularia واقع در خلیج فارس جداسازی شد. شرایط فرمانتاسیون و رشد باکتری و تولید ترکیب سیتوتوکسیک در محیط کشت بررسی گردید. مراحل خالص‌سازی نسبی عصاره‌های باکتری استرپتومیسس گریزکولوآلبوس انجام گرفت و اثر عصاره‌های توکسیک بر روی سلولهای سرطانی اپیدرموئید دهان (KB) توسط آزمون نوترال رد مورد بررسی قرار گرفت و نیز اثرات ستیوپاتولوژیک عصاره استونی بر روی سلولهای (KB) بررسی شد.

نتایج: مقادیر IC50 =۴/۱۹ μ g/ml برای عصاره استونی و مقادیر IC50 =۴۴/۷۹ μ g/ml برای عصاره متانولی تعیین گردید. تغییرات مورفولوژیک ناشی از تأثیر این عصاره توکسیک در سلولهای KB بررسی گردید و نکروز و تغییرات هسته مشاهده شده در سلولهای سرطانی موجب شد که عصاره استونی باکتری استرپتومیسس گریز کولوآلبوس به عنوان کاندیدی جهت داروهای سیتوتوکسیک معرفی می گردد.

واژه‌های کلیدی: سیتوتوکسیک ، استرپتومیسس گریزکولوآلبوس ، سلولهای سرطانی (KB)

۲و۳- انستیتو پاستور ایران - تهران

مقدمه

می‌دانیم محصولات طبیعی باکتریایی منبع بسیار غنی برای ترکیبات جدید با فعالیت‌های بیولوژیک مختلف می‌باشند. ساختمان شیمیایی این ترکیبات بسیار متفاوت و پیچیده بود و غالباً فعالیت‌های ویژه‌ای را در سیستم مختلف بیولوژیک از خود نمایش می‌دهند. در دهه ۱۹۶۰ کاوش در محیط دریایی به عنوان منبع جدیدی جهت جداسازی ترکیبات فعال بیولوژیک آغاز گردید[۱۰]. باکتری‌های دریایی موجودات بسیار پیچیده‌ای می‌باشند و اشکال زیستی متنوعی از میکروارگانیسم‌ها را نشان می‌دهند ولی امروزه تنها حدود ۵ درصد از میکروارگانیسم‌های قابل کشت دریایی مورد شناسایی قرار گرفته‌اند و حدس زده

۱- استادیار گروه بیولوژی دریا
۲- استاد گروه انگل‌شناسی
۳- کارشناس ارشد انگل‌شناسی
۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

می‌شود که کمتر از یک درصد ترکیبات شیمیایی مفید آنها تحت را در رابطه با ترکیبات آنتی بیوتیک و آنتی تومور و سایر ترکیبات با خواص بیولوژیک نشان می‌دهد[۵].

گروه باکتری‌های اکتینومیستال‌ها در محیط‌های دریایی و همزیست با سایر جانوران دریایی از قبیل اسفنج‌ها و نرم‌تنان درصد بسیار اندکی (کمتر از یک درصد)[۱۵] را در محیط‌های دریایی تشکیل می‌دهد این در حالی است که این گروه اندک دارای خواص بیولوژیک فراوانی می‌باشد و تا کنون ترکیباتی از قبیل اکتالاکین [۱۳] سالینامید A و B و هالیکومایسین [۵] و دسی‌پپتید PM- ۳۹۱۳۰ [۵] از این گروه از باکتری‌ها در محیط‌های دریایی استخراج شده که دارای اثرات ضدتوموری می‌باشند. در این مقاله بیان خواهیم نمود که ترکیبات سیتوتوکسیک در کدامین مرحله از رشد باکتری دریایی استرپتومیسس گریزکولوآلبوس تولید می‌گردد و تأثیر عصاره‌های سیتوتوکسیک باکتری را بر روی رده سلولهای سرطانی اپیدرموئید دهان انسان (KB) تحت بررسی قرار داده تا مشخص شود ، مرگ سلولهای سرطانی KB در نتیجه تأثیر نکروز ترکیبات بر روی سلولها بوده و یا تحت تأثیر مکانیسم آپوپتوزیس می‌باشد. امروزه یافتن ترکیبات سیتوتوکسیک با ساختارهای جدید مولکولی با توجه به افزایش انواع تومورها و سرطان‌ها و توکسیک بودن بسیار زیاد ترکیبات از اهمیت زیادی برخوردار شده است، با توجه به این که محیط‌های دریایی دارای شرایط ویژه‌ای برای رشد باکتری می‌باشند لذا امید می‌رود بتوان از این عصاره به عنوان کاندیدی مناسب در جهت مطالعات بیشتر در راستای استخراج و شناسایی ترکیبات فعال بیولوژیک سیتوتوکسیک و بررسی اثرات آنها در جانوران آزمایشگاهی به منظور دستیابی به داروهای ضد سرطانی جدید در مطالعات بعدی استفاده نمود.

روش بررسی

میکروارگانیسم : باکتری Streptomycete griscoloalbus تولیدکننده ترکیب سیتوتوکسیک [۱] از مرجان نرم Simularia Erecta واقع در جزیره لارک در خلیج فارس جداسازی شد[۲] جستجو قرار گرفته باشد. مطالعات مقدماتی، نتایج بسیار خوبی این باکتری از میان ۴۶ سویه باکتری هتروتروف از مرجان نرم نامبرده جداسازی گردید و پس از تهیه مایع فرمانتاسیون به وسیله تست کشندگی آرتمیا مطابق روش آندرسون و همکاران در سال ۱۹۹۱ این باکتری انتخاب گردید[۳] . ابتدا استرپتومیسس گریزکولوآلبوس در محیط کشت ISP4 سطح شیبدار کشت داده شد سپس ۳۰ ارلن ۱۰۰cc هم شکل انتخاب شده و به هر کدام ۲۵cc از محیط کشت G اضافه شد. میزان اسپور تلقیح شده ۵×۱۰^{۶} اسپور در هر میلی لیتر بود. ارلن‌ها در درجه حرارت ۲۸^{0C} با دورهای ۲۵۰ دور در دقیقه (rpm) به مدت ۱۹۲ ساعت بر روی شیکر گرماگذاری شدند. قبل از شروع آزمایش PH ۷ اندازه‌گیری شد. در هر بار ۳ ارلن تحت شرایط استریل در فاصله زمانی۲۴ ساعت انتخاب و تمامی مواد ارلن تخلیه شد و پس از تعیین PH باکتریایی محیط کشت در ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید و پلیت باکتری توزین شد و وزن تر محاسبه گردید.

مطالعه فعالیت بیولوژیک : فعالیت سیتوتوکسیک کشت فرمانتاسیون G در زمان‌های مختلف طبق روش تست کشندگی آرتمیا با روش آندرسون و همکاران ۱۹۹۱ سنجش شد جهت بررسی اثر توکسیک محیط‌های کشت، محیط کشت سوپرناتنت ابتدا تحت سرما و خلاء خشک و توزین گردید و با استفاده از تست آرتمیا میزان LC_{50} سنجش شد[۳] و بهترین فاز تولید ترکیب سیتوتوکسیک انتخاب و عصاره استونی مطابق روش یاسوشی و همکاران در سال ۱۹۹۷ تهیه شد جهت تهیه عصاره متانولی ابتدا سوپرناتنت باکتریایی تحت سرما و خلاء خشک گردید و به مدت ۲۴ ساعت متانول بر روی آن اضافه شد. عصاره متانولی توسط سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه جدا شده و عصاره تحت خلاء خشک گردید[۱۴] . از این عصاره‌ها در آزمون‌های سیتوتوکسیک بر علیه سلولهای سرطانی استفاده شد. مراحل خالص سازی عصاره باکتری در دیاگرام آورده شده است.

کشت سلولهای KB : سلولهای سرطانی اپیدرموئید دهان انسان (KB) از بخش کشت سلولی انستیتو پاستور ایران به صورت آمپول تهیه گردید و به محیط کشت روزلت پارک مدیوم انستیتو

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

RPMI- ۱۶۴۰ منتقل شد. محیط کشت RPMI-۱۶۴۰ در PH ۷/۳ تهیه گردید و توسط فیلتر میلی پور ۰/۲۲ میکرون استریل گردید

دیاگرام مراحل خالص سازی عصاره باکتری استرپتوکوکوس گریز کولوآلبوس

و به محیط کشت به نسبت ۲۰۰µg/ml پنی‌سیلین G و۸۰µg/ml جنتامایسین و نیز به نسبت ۱۰ درصد سرم جنین گاو فیلتر شده به محیط اضافه گردید. روزانه محیط‌های کشت سلولی از جهت چگونگی رشد سلولها KB بوسیله میکروسکوپ معکوس بررسی و درصد بقا آنها بر میزان تراکم سلولی کنترل شد[۱۱]. برای آزمون نوترال رد ابتدا توسط عمل تریپنیزاسیون سلولها از سطح فلاسک جدا شده و به مدت ۵ دقیقه در ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ انجام شد. پس از تعیین درصد بقا به میزان ۲۵۰۰۰ سلول در هر کدام از میکروپلیت‌های ۹۶ حفره‌ای کشت سلولی توزیع گردیدند، و از محیط کشت RPMI-۱۶۴۰ به مقدار ۲۰۰λ به هر حفره اضافه شد و ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد تا سلولهای در میکروپلیت‌ها رشد نمایند ، در طول این مدت تراکم سلولی توسط میکروسکوپ معکوس بررسی شده و بعد از ۲۴ ساعت محیط کشت سلولها عوض شد و محیط کشت جدید حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌های استونی و متانولی (۱۰۰، ۸۰، ۶۰، ۴۰، ۲۰، ۱۰، ۵،۲ میکرولیتر) اضافه گردید و آزمون سه بار تکرار شد. از کنترل منفی دی متیل سولفوکساید (DMSO) یک درصد در هر چاهک به میزان ۱۰۰ میکرولیتر استفاده شد و ترکیب دوکسوربیسین به عنوان کنترل مثبت به کار برده شد.

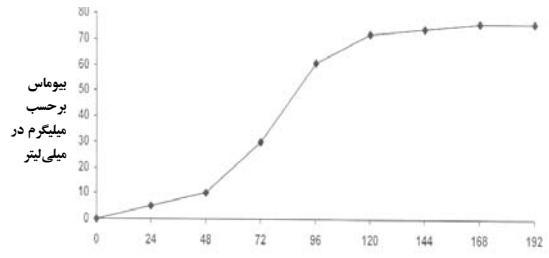
ارزیابی میزان سمیت با استفاده از آزمون نوترال رد : اساس کار آزمون نوترال رد بر مبنای جذب رنگ در لیزوزوم سلولهای زنده بود که پس از لیزشدن غشای سیتوپلاسمی سلولهای مورد نظر و رنگ آنها استخراج گردید و میزان رنگ جذب شده توسط دستگاه الایزا در طول موج ۵۴۰ نانومتر بررسی شد ، به طوری که میزان OD به دست آمده نشانگر مقدار زنگ جذب شده توسط سلولهای زنده می‌باشد. از روش Guilet و همکاران (۲۰۰۱) در این بررسی استفاده شد[۹] . OD به دست آمده نشانگر میزان جذب رنگ توسط سلولهای زنده می‌باشد هر چه تعداد سلولهای سرطانی زنده بیشتر باشد OD به دست آمده نیز بالاتر است. OD خالص برای هر نمونه به صورت: OD زمینه- OD اولیه = OD خالص می‌باشد. میزان IC_{50} (میزان ممانعت از رشد سلولهای سرطانی) ۵۰ ٪ از سلولهای مطابق فرمول زیر محاسبه گردید[۱۳].

$$IC_{50}= \frac{\text{OD کنترل منفی} - \text{OD نمونه} \times ۱۰۰}{\text{OD کنترل منفی}}$$

ارزیابی مورفولوژی سلولها : ابتدا سلولهای KB در چمبراسلاید کشت و با عصاره‌ها تیمار گردیدند. در ساعات ۶ و ۱۲ مطالعه سلولها با میکروسکوپ اینورت بررسی و سپس سلولها توسط متانول به مدت یک دقیقه فیکس شده و توسط گیمسا دو درصد به مدت نیم ساعت رنگ‌آمیزی شدند و توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج

در این تحقیق رشد باکتری Streptomycete Griscoloalbus جدا شده از مرجان نرم Simularia Erecta مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تولید بیوماس باکتری فوق در محیط کشت G بر حسب میلی گرم در میلی لیتر در نمودار (۱) نشان داده شده است.



[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

نمودار ۱: تولید بیوماس در باکتری استرپتومیسس گریزلوکوآلبوس بر حسب میلی گرم در میلی‌لیتر

اثر کشندگی عصاره محیط کشت G باکتریایی بر روی آرتیما فرانسیسکانا مورد بررسی قرار گرفت و درصد LC_{50} آن بر حسب میکرو گرم در میلی لیتر در زمانهای مختلف تعیین گردید. که نتایج در جدول (۱) آمده است. همانطور که در نمودار (۱) نشان داده شده این باکتری در محیط کشت ۹۶ ساعت در درجه حرارت ۲۸ درجه سانتی‌گراد و دور شیکر ۲۵۰ دور در دقیقه بیشترین افزایش میزان بیوماس (وزن‌تر) را داشته است و پس از آن باکتری وارد رشد ثابت می‌گردد و فاز رشد لگاریتمی این باکتری از ۴۸ تا ۹۶ ساعت می‌باشد. با بررسی اثرات کشندگی در جدول (۱) عصاره محیط کشت G بر روی آرتمیا فرانسیسکانا زمان شروع تولید ترکیب سیتوتوکسیک تعیین گردید. به طوری که اثرات توکسیک ضعیف محیط کشت باکتری پس از ۹۶ ساعت به میزان LC ۵۰=۶۱۱μg/ml ملاحظه گردید و به تدریج بر اثرات توکسیک افزوده شد به طوری که در محیط کشت ۱۶۸ ساعت اثر کشندگی به LC ۵۰=۲۵۰ μg/ml رسید، لذا این ترکیبات به لحاظ اینکه پس از رشد ثابت باکتری ایجاد می‌شوند جزو متابولیت‌های ثانویه قلمداد می‌گردند. پس از آنکه زمان و شرایط مناسب برای حداکثر تولید متابولیت ثانویه تعیین گردید مجدداً از حجم‌های فوق در جهت خالص‌سازی نسبی عصاره استفاده شد و عصاره‌های استنی و متانولی مطابق روش ذکر شده تهیه گردید و اثرات این عصاره‌ها بر روی سلولهای سرطانی رده اپیدرموئید دهان انسان KB بررسی شد(جدول ۲) . محیط کشت ۱۶۸ ساعت باکتریایی و درجه حرارت ۲۸ درجه سانتی‌گراد به عنوان بهترین شرایط تولید ترکیبات توکسیک در باکتری استرپتومیسس گریز کولوآلبوس معرفی گردید. نتایج حاصل از آزمون نوترال رد بر روی سلولهای سرطانی KB با غلظت‌های مختلف در جدول (۲) نشان داده شده است. به طوری که ملاحظه می‌گردد فراکسیون عصاره استونی پلیت باکتری دارای اثرات ممانعت کنندگی از رشد ۵۰ درصد سلولهای سرطانی به غلظت LC ۵۰=۴/۱۹ μg/ml و عصاره متانولی سوپر ناتنت دارای LC ۵۰=۴۴/۴۹ μg/ml می‌باشند.

نتایج حاصل بوسیله برنامه نرم افزاری Lichfield – ۲۷ Wilcoxon , PC/ Pharm ver به دست آمده است (جدول ۲) .

جدول ۱ : میزان LC_{50} بر حسب μg/ml در آرتمیافرانسیسکانا در محیط کشت G

زمان (ساعت)	میزان LC_{50} بر حسب μg/ml در آرتمیافرانسیکانا
۰	۰
۲۴	۰
۴۸	۰
۷۲	۰
۹۶	۶۱۱
۱۲۰	۴۱۰
۱۴۴	۳۶۵
۱۶۸	۲۵۰
۱۹۲	۲۵۰

جدول ۲ : میزان ممانعت از رشد سلولهای KB توسط عصاره‌های استونی و متانولی استرپتومیسس گریزکولوآلبوس توسط تست نوترال رد بر حسب μg/ml

اثر بر روی سلولهای سرطانی KB	
ترکیب	Lc ۵۰=(μg/ml)KB cell
۱- فراکسیون اتیل استاتی از عصاره استونی پلیت	۴/۱۹
۲- عصاره متانولی از سوپر ناتنت	۴۴/۷۹
۳- دوکسی روبیسین	<۱/۱

جهت بررسی اثرات مورفولوژیک عصاره‌ها بر روی سلولهای KB گسترش‌های تهیه شده از سلولهای سرطانی تحت تیمار با غلظت‌های ۱μg/ml، ۲μg/ml، ۴μg/ml عصاره استنی و کنترل منفی تهیه و با رنگ گیمسا رنگ آمیزی شدند پس از ۸ ساعت سلولهای KB (کنترل منفی) دارای دیواره سلولی مشخص همراه با زواید سیتوپلاسمی گسترده بوده و اندازه سلولها تقریباً یکسان می‌باشد. اندازه هسته‌ها نسبتاً یکسان بوده و تغییر شکل خاص

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

مشاهده می‌گردد. هسته‌ها نسبت به سیتوپلاسم بسیار درشت بوده که از ویژگی‌های سلولهای سرطانی می‌باشد.(شکل ۱ الف)

در غلظت ۴μg/ml همانگونه که در شکل ب ملاحظه می‌گردد در این سلولها ضمن افزایش حجم سلول و ظهور واکوئل‌های خاص در داخل سلولها شواهدی را مبنی بر نکروز سلولی نشان می‌دهد. اما اثرات خاص مبنی بر تغییرات هسته و هستک ها ملاحظه می گردد به نظر می‌رسد این دوز باعث ایجاد نکروز در سلولها گشته است.

همانگونه که در شکل های (ج) ملاحظه می‌شود در لام تیمار شده با غلظت ۱μg/ml عصاره استونی هسته سلولها دچار تغییرات عمده‌ای شده است به علاوه دیواره سلولها تغییر کرده و زواید سیتوپلاسمی کاهش یافته است این امر تغییرات سیتواسکلتی سلول را نشان می‌دهد در بعضی قسمتها حالت کشیدگی و پارگی مشاهده می‌گردد.

بحث

همانگونه که نتایج کشت باکتری استرپتومیسس گریزکولوآلبوس در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است مشخص گردید که این باکتری دیر رشد می‌باشد. رشد لگاریتمی این باکتری ۴۶ الی ۹۶ ساعت مشاهده گردید. پس از آن باکتری وارد فاز رشد ثابت گردید و مطابق آزمون‌هایی که بر اساس آزمون کشندگی آرتمیا به دست آمد شروع و تولید ترکیبات سیتوتوکسیک پس از مرحله رشد لگاریتمی آغاز شد. لذا می‌توان محیط کشت G و در ۲۵۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و درجه حرارت ۲۸ درجه سانتی گراد در مدت زمان ۱۶۸ ساعت را به عنوان شرایط مناسب برای رشد و تولید ترکیب سیتوتوکسیک ذکر کرد. باکتری های جنس استوپتومیسس از باکتری‌های گرم مثبت و کند رشد می‌باشند، این گروه از باکتریها دارای متابولیت‌های ثانویه بوده و تا کنون گروهی از متابولیت‌های ثانویه سیتوتوکسیک و آنتی تومور از باکتری دریایی گزارش شده است و عمدتاً به گروههای ترکیبات اسیدهای آروماتیک، منوترپن‌های آلکالوئیدی، و لاکتون ها تعلق دارند و از لحاظ رشد نتایج مشابه به دست آمده است[۷،۴].

جهت بررسی اثرات سیتوتوکسیک تکمیلی از عصاره‌های استونی و متانولی از محیط فرمانتاسیون ۱۶۸ ساعته تهیه گردید. میزان ممانعت از رشد سلولهای سرطانی KB در عصاره استونی IC_{50} =۴/۱۹μg/ml بوده و عصاره متانولی دارای IC_{50} =۴۴/μ۷۹g/ml می‌باشند.

شکل(۱) الف سلولهای طبیعی KB ، دارای جدار چین خورده ، زواید سیتوپلاسمی مشخص و پیشرفته و هسته‌های طبیعی می‌باشد. توسط آنالیز دستگاهی سلولهای KB متوسط طول سلولها ۳۴/۵ میکرون ، متوسط عرض ۱۵/۶ میکرون و متوسط قطر هسته ۴ میکرون تعیین گردید.

* بزرگنمایی ۴۰۰ رنگ آمیزی شده.

ب) سلولهای KB در ۴μg/ml غلظت عصاره استونی ، طول متوسط سلولها با استفاده از آنالیز دستگاهی ۸۵ میکرون و متوسط ۲۲/۸ میکرون تعیین گردید.

* بزرگنمایی ۱۰۰۰

ج) اشکال ناهمگون هسته و کوچک شدن سلولها در غلظت‌های ۱μg/ml عصاره استونی.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

* بزرگنمایی ۱۰۰۰

مطالعات پیشین در مورد ترکیبات سیتوتوکسیک و آنتی تومور حاصل از باکتری های دریایی در سال ۱۹۸۷ توسط مونرو و همکاران به چاپ رسیده است و بر این اساس تعریف اصطلاح سیتوتوکسیسیته به اثر توکسیک بر علیه سلولهای توموری در محیط کشت سلولی گفته می‌شود و این میزان در رابطه با ترکیبات عصاره $IC_{50} < ۲۰\mu g/ml$ و در ترکیبات خالص $IC_{50} < ۴\mu g/ml$ می‌باشد[۴]. بر این اساس عصاره متانولی با وجود آنکه دارای $IC_{50} = ۴۴/۷۹\mu g/ml$ می‌باشد آن را نمی‌توان عصاره سیتوتوکسیک قلمداد نمود این در حالی است که عصاره استونی با $IC_{50} = ۴/۱۹\mu g/ml$ دارای اثر سیتوتوکسیک مناسبی می‌باشد. به نظر می‌رسد ترکیب یا ترکیبات اصلی سیتوتوکسیک این باکتری نیمه قطبی می‌باشند که به میزان بیشتری در حلال استون وارد شده است با توجه به نتایج دست آمده عصاره استونی به میزان قابل توجهی دارای مقادیر ترکیبات توکسیک بیشتر از عصاره متانولی می‌باشد. از عصاره استونی برای بررسی اثرات سیتوپاتولوژیک استفاده گردید و روشن شد که تورم سلول که یکی از تظاهرات اشکال عوامل آزارسان می‌باشد در غلظت ۴μg/ml به خوبی مشاهده می‌شود. با بررسی لام‌ها در زیر میکروسکوپ تورم سلولی و تغییرات چربی سلول که با ظهور واکوئل‌های بزرگ و کوچک مشاهده گردید این امر دلیلی روشن بر وجود نکروز و مرگ برخی از سلولها را روشن می‌نماید، اما در غلظت پایین ۱μg/ml زواید سیتوپلاسمی سلول‌ها کاهش یافته و هسته‌ها دچار ناهمگونی شده‌اند، این غلظت بسیار پایین‌تر از غلظت ممانعت از رشد ۵۰ درصد سلولهای KB می‌باشد[۶]. با توجه به شکسته شدن هستک‌ها و ناهمگون شدن هسته‌های سلولهای KB در غلظت‌های پایین تصور می‌شود که اثر این عصاره بر روی هسته‌های سلولهای KB می‌باشد. اخیراً جهت تشخیص داروهای ضد سرطانی از عکس العمل ایجاد شده توسط داروها بر روی سلولهای سرطانی و تشکیل آپوپتوزیس بر روی سلولهای هدف، آن ترکیبات را شناسایی نمود. برخی از ترکیبات طبیعی بیولوژیک سیتوتوکسیک از قبیل تاکسول ، اتوپساید ، کامپتوتسین ، سیپلاتین در دوزهای پایین سبب شکسته شدن کروماتین و اشکال نامنظم هسته می‌گردد و این تأثیر توسط متابولیت های باکتریایی تاکنون تنها در ترکیب سیتوترنین جدا شده از سویه استرپتومیست خاکی مشاهده شده است[۱۲].

بنابراین عصاره استونی در غلظت ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌تواند بر روی سلولهایKB اثر نکروز داشته باشد و در غلظت‌های ۱ میکروگرم در میلی لیتر می‌تواند تغییرات خاصی در هسته و هستک‌ها و سیتوپلاسم نشان دهد لذا از عصاره استونی میتوان به عنوان کاندید داروهای ضد سرطانی استفاده نمود و جهت مراحل آتی خالص‌سازی و تعیین ساختار ترکیب فعال این عصاره و بررسی اثر آن بر روی جانداران آزمایشگاهی انجام خواهد گرفت.

سپاسگزاری

از انستیتو پاستور ایران که امکان کشت سلولی را فراهم نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

سیتوتوکسیک جدا شده از آن». مجله علوم دریایی ایران – شماره دوم/ بهار، ۱۳۸۱ : ۵۹-۵۱ .

منابع

۱- صفائیان ش ، نوحی الف ، عریان ش ، آسمار م ، روستائیان ع.
« بررسی مرجان نرم Simularia erecta از خلیج فارس و مطالعه تاکسونومیک سویه‌ای باکتری استرپتومیست تولید کننده ترکیب

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

۲- ناجی سید حسین زاده ط.« ***استخراج و تعیین ساختار مولکولی مواد موثر در برخی از مرجانهای نرم خلیج فارس و بررسی اثرات فیزیولوژیک و فارماکولوژیک مواد طبیعی موجود در آنها بر تعدادی از ارگانیسم‌های منتخب***». پایان نامه دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، ۷۹-۱۳۷۸ : ۲۵۶.

3- Anderson JECM. Coetz and JL, Mlaughtin M. suffness A. ***Blind comparision of simple bench top bioassay and human tumor cell cytotoxicities as antitumor presccreeens .*** Phytochemical Analysis, 1991,2: 107-111.

4- Attaway DH , Zabrosky OR . ***Marine biotechnology***, USA , CRP prees , 1993 2 nd ed : 499.

5- Bernan VSM, Greenstein WM. ***Maises marine microorganisms as a source of new natural products , Advance in Applied Microbiology .*** 1997, 43 : 57-87.

6- Cotran RV, kumar SL . Robbins, Robbins pathologic basis of diseases, 1997 , Vol 1 , 5nd ed : 578.

7- Cho WKHS, Lee JR. ,Rho TS , Kom SJ ,Mo J. Shin . ***New laclon-containg metabolist from marine derived bacterium of genus Streptomyces,*** J. Nat. product , 2001, 64: 664-667.

8- Fenical WRP , Jensen , ***Marine Biotechnology, pharmacevtical and bioactive natural products .*** Pleunm press, 1991, Vol : 1: 414-450.

9- Guilet DJJ . Heksbut . ***Novel cytotoxic phenyl furano coumarins from cal ophyllum dispar*** . J . Nat . prod , 2001 , Vol . 64 : 563-568.

10- Iwai YY , Takahashi . ***The search for bioactive compounds from microorganisms.*** New York , 1992. Springer: 281-302.

11- Kameyama TA , Takahashi S , Kurasawa H, shizuka Y, Okami T , Takeuchi H. ***Umezawa. Bisucaberin, a new Sidrophore, sensitising tumor cells to macrophage mediated cytolysis ,*** The Journal of Antibiotics, 1987, Vol. XL, 12, 1664-1670.

12- Kayeya HH , Zhang KK , Obinata , Cytotrienin A. ***A novel apoptosis inducer in HL-60 cells .*** The Joumal of Antibiotics, 1997, 50 : 370-.373.

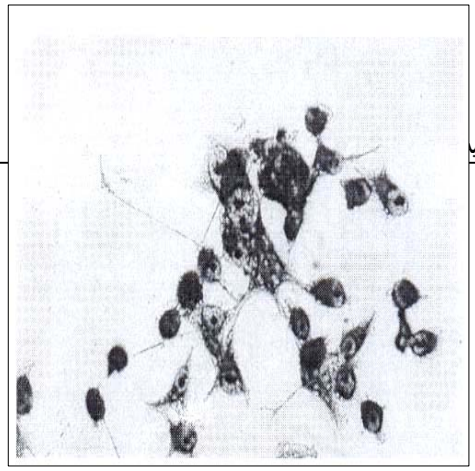
13- Tapiolas DMM , Roman . Fenical , octalactins from a marine bacterium Sterptomyces sp, . J . Am . Soc , 1991 , Vol . 113 : 4681-4683.

14- Yasuchi ST , Yoshida T , Tsujta K , Ochiaid T . ***Agatsuma, GE3, a novel hexadesipeptide antitumor antibiotic, produced by Streptomyces*** sp , J . Antibiotic, 1997 . 50 : 659-664.

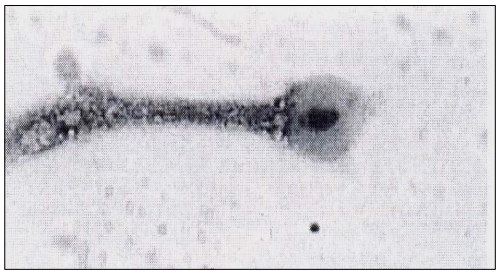
15- Zheng ZW , Zeng Y , Huang Z , Yang L , Lio . ***Detection of antitumor and antimicrobial activities marine organism associated actinomycetes isolated from the taiwan strait, Chanes.*** FEMS Microbiology letters , 2000 , 188: 87-91.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

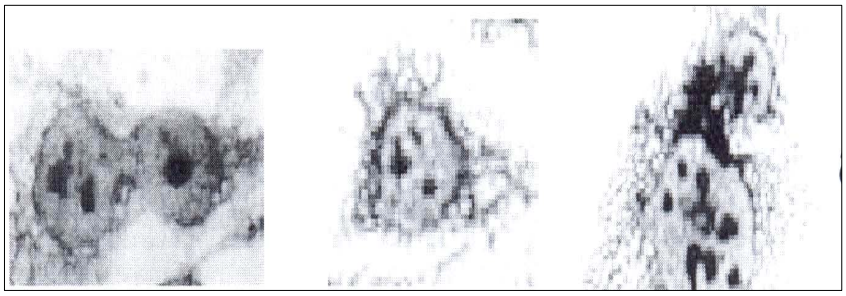
الف



ب



ج



[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]