ORIGINAL ARTICLE

Effects of Spirulina Extract on Proliferation, Apoptosis, Nitric Oxide Production, and Activation of the Fas/FasL–ASK1–p38 Pathway in Breast and Prostate Cancer Cells

Azita Faramarzi[1],
Mona Pazhouhi[1],
Afin Ali Mohammad[2],
Cirus Jalili[3]

[1] Associate professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
[2] Student, Student Research Committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
[3] Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

(Received March 16, 2025; Accepted August 30, 2025)

Abstract

Background and purpose: Chemotherapy is a standard treatment for cancer patients. However, the development of resistance significantly reduces the therapeutic efficacy of anticancer drugs. According to previous studies, Spirulina exhibits potential anticancer properties. Given the need for new therapeutic approaches, this study was designed to evaluate the effects of Spirulina on cell proliferation, apoptosis, nitric oxide production, and the expression of apoptosis-related genes in breast and prostate cancer cells.

Materials and methods: In this experimental study, after preparing the hydroalcoholic extract of Spirulina, the effects of various concentrations of the extract on the viability of breast cancer, prostate cancer, and fibroblast cells were evaluated. The percentage of DNA fragmentation and nitric oxide production were measured. Real-time PCR was performed to analyze the expression of ASK1, p38, Fas, and FasL genes in RNA extracted from control and treated cells. The data were analyzed statistically.

Results: After 24, 48, 72, and 96 hours of treatment with the hydroalcoholic extract of Spirulina, the viability of breast and prostate cancer cells decreased in a concentration- and time-dependent manner. After 24 hours, the IC50 concentration of the Spirulina extract significantly increased apoptosis and nitric oxide production ($P< 0.05$) and caused a significant upregulation in the expression of ASK1, p38, Fas, and FasL genes in both cancer cell lines ($P< 0.05$).

Conclusion: The hydroalcoholic extract of Spirulina induces programmed cell death in breast and prostate cancer cells by activating the Fas/FasL–ASK1–p38 pathway and modulating nitric oxide production. Considering the critical role of drug resistance in reducing the effectiveness of conventional cancer therapies, Spirulina may be regarded as a natural compound with potentially low toxicity, suitable for the development of novel or complementary therapeutic strategies.

Keywords: spirulina, prostate cancer, breast cancer, apoptosis, Nitric oxide

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 35 (249): 20-31 (Persian).

Corresponding Author: Cirous Jalili - School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran (E-mail: cjalili@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و پنجم شماره ۲۴۹ مهر سال ۱۴۰۴ (۳۱-۲۰)

اثرات عصاره اسپیرولینا بر تکثیر، آپوپتوز، ترشح نیتریک اکساید و فعالسازی مسیر Fas/FasL-ASK1-p38 در سلول های سرطان پستان و پروستات

آزیتا فرامرزی[۱]
مونا پژوهی[۱]
ئه فین علی محمد[۲]
سیروس جلیلی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: شیمی‌درمانی به عنوان درمان استاندارد برای بیماران مبتلا به سرطان در نظر گرفته می‌شود. با این حال، مقاومت به درمان، کارایی دارو برای درمان سرطان را به‌طور قابل توجهی کاهش می‌دهد. بر طبق مطالعات قبلی اسپیرولینا دارای اثرات ضد سرطانی می باشد. با توجه به ضرورت شناسایی روش های درمانی جدید، این مطالعه با هدف تعیین اثرات اسپیرولینا بر تکثیر، آپوپتوز، ترشح نیتریک اکساید و بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز در سلول‌های سرطان پستان و پروستات، انجام پذیرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی، بعد از تهیه عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا اثر غلظت های مختلف عصاره بر زنده مانی سلول‌های سرطان پستان، سرطان پروستات و فیبروبلاست بررسی شد. درصد قطعه، قطعه قطعه شدن DNA و سطح نیتریک اکساید اندازه گیری شد. برای تجزیه و تحلیل بیان بیان ژن‌های *ASK1*، *p38*، *Fas* و *FasL*، RNA سلول‌های کنترل و تیمار شده از تست Real-time PCR استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تیمار با عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا زنده ماندن سلول‌های سرطان پستان و پروستات به روشی وابسته به غلظت و زمان کاهش یافت. پس از ۲۴ ساعت، غلظت IC50 عصاره اسپیرولینا آپوپتوز و تولید نیتریک اکساید را به صورت معنی‌داری افزایش داد($P <۰/۰۵$) و باعث افزایش معنی‌دار در بیان ژن‌های *ASK1*، *p38*، *Fas* و *FasL* در هر دو رده سلولی سرطانی شد ($P <۰/۰۵$).

استنتاج: عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا می‌تواند از طریق فعال‌سازی مسیر Fas/FasL-ASK1-p38 و مهار تولید نیتریک اکساید، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی را در سرطان پستان و پروستات تحریک کند. با توجه به نقش مقاومت دارویی در کاهش اثربخشی درمان‌های سرطان، اسپیرولینا می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب طبیعی کم‌عارضه در توسعه راهبردهای درمانی جدید یا تکمیلی مورد توجه قرار گیرد.

واژه های کلیدی: اسپیرولینا، سرطان پروستات، سرطان پستان، آپوپتوز، نیتریک اکساید

مولف مسئول: سیروس جلیلی- کرمانشاه: دانشکده پزشکی گروه علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران **Email:** cjalili@yahoo.com
۱. دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۲. دانشجو، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۳. استاد، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۳/۱۲/۲۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۴/۱/۱۹ تاریخ تصویب : ۱۴۰۴/۶/۸

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

مقدمه

سرطان یکی از علل عمده مرگ در سراسر جهان است و بعد از بیماری‌های قلبی- عروقی در ایالت متحده و اروپا دومین عامل اصلی مرگ می باشد. بر طبق آمار سازمان بهداشت جهانی (WHO)(World Health Organization) تعداد مبتلایان به سرطان در سال ۲۰۰۸، ۱۲/۷ میلیون نفر اعلام شد و پیش‌بینی می‌شود که این رقم تا سال ۲۰۳۰ به ۲۲/۲ میلیون نفر افزایش یابد(۱، ۲). سرطان پروستات به‌عنوان دومین سرطان شایع در میان مردان و پنجمین علل مرگ و میر در دنیا شناخته شده است. میزان وقوع و کشندگی سرطان پروستات در دنیا با افزایش سن ارتباط دارد و سن متوسط در زمان تشخیص بیماری به ۶۶ سال رسیده است(۳). در سراسر دنیا، سرطان پستان مهم‌ترین نوع سرطان در زنان است، و ۲۵ درصد از تمام موارد سرطان را به خود اختصاص می‌دهد(۴).

آپوپتوز نقش اساسی در رشد طبیعی و هموستاز بافت ایفا می‌کند و هنگامی که تنظیم نشود باعث ایجاد بیماری‌های مختلف از جمله سرطان، خود ایمنی و اختلالات عصبی می‌شود. کیناز تنظیم کننده سیگنال آپوپتوز 1 (ASK) (Apoptosis Signal-Regulating Kinase) یک عضو خانواده پروتئین کیناز کیناز (MAPKKK) (Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Kinase) فعال شده با میتوژن است و در پاسخ به H2O2، TNF و Fas از طریق مکانیسم های متمایز فعال می‌شود و آن سیگنال ها را به MAP کینازهای فعال شده تحت استرس مانند JNK و p38 می‌رساند. بیان بیش از حد آلل نوع وحشی یا فعال، ASK1، JNK و p38 را فعال می کند و از طریق فعال‌سازی کاسپاز وابسته به میتوکندری، آپوپتوز را در سلول‌های مختلف القا می‌کند. یازده نوع MAPs پستانداران مختلف تا به امروز به‌عنوان فعال‌کننده‌های بالادست مسیر JNK و/یا p38 شناسایی شده اند. با این حال، نقش مسیرهای سیگنال دهی JNK/p38 در طول آپوپتوز، همان طور که با بیان پروتئین‌های غالب منفی در شرایط آزمایشگاهی یا با هدف قرار دادن برخی از آن ژن ها مورد سنجش قرار می گیرد، بحث برانگیز بوده است(۵).

اسپیرولینا یک مکمل غذایی محبوب است که از جلبک‌های سبز آبی (سیانوباکتری‌ها) از جنس Arthrospira به دست می آید. آن ها آزادانه در آب شور شناور هستند. اسپیرولینا به‌طور معمول در مخازن آب قلیایی در مناطق نیمه گرمسیری و گرمسیری آمریکا، آسیا و آفریقای مرکزی رشد می کند و به صورت تجاری تولید می شود. با توجه به محتوای بالای مواد مغذی و اثرات درمانی متفاوت، اسپیرولینا در بین مصرف کنندگان محبوب است و به عنوان یک مکمل غذایی مصرف می‌شود(۶). بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که اسپیرولینا دارای غلظت بالایی از متابولیت‌های اولیه و ثانویه ارتقاءدهنده سلامتی است(۷). برخی از فیکوبیلی پروتئین‌ها اخیراً دارای فعالیت ضد سرطانی هستند. برای مثال، C-PC طبیعی (کمپلکس پروتئین-رنگدانه محلول در آب) خالص شده از اسپیرولینا با مهار تکثیر سلول‌های نئوپلاسم و اختلال در چرخه سلولی سرطان مرتبط است(۸-۱۲).

بیماران مبتلا به سرطان پیشرفته یا عود کننده پیش آگهی بدی دارند و بقای یک ساله آن‌ها تنها ۱۰ تا ۲۰ درصد است. شیمیدرمانی به عنوان درمان استاندارد برای بیماران مبتلا به سرطان پیشرفته یا عود کننده در نظر گرفته می‌شود. با این حال، مقاومت به درمان ممکن است ایجاد شود، بنابراین کارایی دارو برای درمان سرطان پیشرفته یا عودکننده به‌طور قابل توجهی به خطر می‌افتد. به خوبی شناخته شده است که مصرف منظم برخی از مواد طبیعی، به اصطلاح عوامل شیمیایی پیشگیری کننده، می تواند خطر ابتلا به سرطان‌های خاص را کاهش دهد. با توجه به ضرورت شناسایی روش های درمانی جدید، این مطالعه با هدف تعیین اثرات اسپیرولینا بر تکثیر، آپوپتوز، ترشح نیتریک اکساید و بیان ژن های مرتبط با آپوپتوز در سلول‌های سرطان پستان و پروستات، انجام شد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

مواد و روش‌ها

پژوهش فوق حاصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه با کد ۴۰۳۰۰۸۱ است که در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه انجام گرفته است. کد اخلاق طرح IR.KUMS.MED.REC.1403.004 می‌باشد. این مطالعه از نوع تجربی-آزمایشگاهی بود که در آزمایشگاه کشت سلول گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه انجام شد.

تهیه عصاره

پودر جلبک خوراکی اسپیرولینا برند آلگوتب (https://algotab.com/) خریداری شد و در دمای اتاق و در سایه خشک شد. سپس توسط آسیاب خرد شد. مقدار ۲۰۰ گرم از پودر آسیاب شده را در یک لیتر حلال (آب مقطر- اتانول با نسبت ۵۰) ریخته و به مدت ۲ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی انکوبه شد. سپس عصاره از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده شد. محلول حاصل به منظور تبخیر حلال‌های موجود در آن در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴ روز قرار داده شد. پودر باقی مانده به‌عنوان عصاره استفاده شد.

کشت سلول

در این پژوهش، سه رده سلول های سرطانی پستان (MCF7)، پروستات (LNCaP) و فیبروبلاست (SKM) در داخل فلاسک ۲۵ سانتی‌متر مربع به صورت کشت شده از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. سلول‌های سرطانی در محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ و سرم جنینی گاو FBS 10 درصد به همراه ۱ درصد آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین و پنی‌سیلین کشت داده شدند و هر سه رده سلولی را در انکوباتور ۵ درصد CO2 و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سلول‌های نرمال فیبروبلاست در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم FBS کشت داده شد. سلول های سرطانی پستان و پروستات بعد از ده مرحله پاساژ منظم و سلول های فیبروبلاست بعد از ۵ مرحله پاساژ آماده شدند.

تست زنده مانی

بعد از شمارش سلولی به میزان ۱۰۰ میکرولیتر شامل تقریبا ۱۵ هزار سلول از سوسپانسیون سلولی در پلیت‌های ۹۶ خانه ریخته و به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور حاوی CO2 و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌منظور چسبیدن به کف پلیت قرار داده شد. سپس محیط کشت رویی سلول‌ها خارج و محیط حاوی عصاره اسپیرولینا و هم‌چنین محیط کشت فاقد سرم به‌عنوان کنترل به سلول‌ها اضافه شد. بعد از ۲۴ ساعت به هریک از چاهک‌ها به میزان ۱۰ میکرولیتر MTT اضافه شد و بعد از آن که ۴ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند به هر یک از چاهک‌ها ۱۵۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد و بعد از ۳۰ دقیقه جذب سلول‌ها توسط دستگاه الیزا ریدر در طول موج‌های جذب ۴۹۰ و ۶۳۰ خوانده و میزان بقا سلول حاصل کسر جذب هر نمونه بر نمونه کنترل (تیمار نشده) بود. سپس میزان IC50 توسط نرم افزار Compusyn برای هرده سلولی محاسبه شد(۱۳).

تست آپوپتوز

در صد قطعه، قطعه قطعه شدن DNA پس از انکوباسیون با استفاده از رنگ آمیزی دی فنیل آمین اندازه گیری شد. به صورت مختصر، بعد از تیمار، تعداد پنج میلیون عدد سلول در ۱ میلی‌لیتر از بافر Tris tris-propanesu lfonic methylamino] (hydroxymethyl) acid - Ethylenediaminetetraacetic acid به حالت سوسپانسیون درآمد. ۱ میلی‌لیتر از هر نمونه در یک میکروتیوب (میکروتیوب B سلول‌های تیمار شده) ریخته شد. سپس سلول‌ها سانتریفیوژ شدند (۲۰۰ گرم، ۱۰ دقیقه، ۴ درجه سانتی‌گراد) و محلول رویی به یک میکروتیوب جدید (میکروتیوب S) منتقل شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول به رسوب در میکروتیوب B اضافه شد. تریتون X-100/Tris/EDTA اضافه شد و به شدت ورتکس شد تا

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

کروماتین تکه تکه شده پس از لیز سلولی آزاد شود. سپس، برای جدا کردن کروماتین تکه تکه شده از میکروتیوب B سالم، محلول سانتریفیوژ شد (۲۰۰۰۰ گرم، ۱۰ دقیقه، ۴ درجه سانتی‌گراد). محلول رویی به میکروتیوب T منتقل شد و ۱ میلی لیتر محلول X-100/Tris/EDTA به رسوب در میکروتیوب B اضافه شد. ۱ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید ۲۵ درصد به هر ۳ میکروتیوب اضافه شد و به مدت یک شب (در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) برای رسوب DNA انکوبه شد. سپس، هر ۳ میکروتیوب سانتریفیوژ شدند (۲۰۰۰۰ g، ۱۰ دقیقه، ۴ درجه سانتی‌گراد). محلول رویی جدا شد و ۱۶۰ میکرولیتر اسید تری کلرواستیک ۵ درصد به رسوب باقی مانده اضافه شد (به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد). ۳۲۰ میکرولیتر محلول فنیل آمین به هر میکروتیوب اضافه و ورتکس شد. محتویات میکروتیوب‌ها به مدت یک شب (در دمای اتاق) انکوبه شدند. ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه برای اندازه‌گیری جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر استفاده شد. درصد DNA قطعه قطعه شده با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد(۱۴).

DNA fragmentation (%) = (absorption rate of S + absorption rate of T + absorption rate of B / absorption rate of S + absorption rate of T) × 100

سنجش بیان ژن

بر اساس پروتکل سازنده معرف DENAzist (تهران، ایران) RNA کل سلول‌های کنترل و تیمار شده استخراج شد. RNA در ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. برای تعیین غلظت RNA از اسپکتروفتومتر نانودراپ استفاده شد. RNA کل با استفاده از کیت (Vivantis Technologies, Selangor DE, Malaysia) به cDNA تبدیل شد. در نهایت Real-time PCR (Real-time polymerase chain reaction)، توسط کیت مخصوص (SYBR Premix Ex Taq Technology, Takara Bio Inc., Shiga, Japan) انجام شد. تفاوت در مقادیر چرخه آستانه (CT) (Threshold Cycle) ژن هدف با ژن β-اکتین (کنترل داخلی) مربوطه محاسبه شد. سطح بیان نسبی ژن هدف به β-اکتین با استفاده از معادله ۲-ΔCT توصیف شد(۱۴). توالی پرایمرها به شرح زیر می‌باشد.

Fas Forward 5′-ATGCACACTCTGCGATGAAG-3′

Reverse 5′-CAGTGTTCACAGCCAGGAGA-3′

FasL Forward 5′-GCAGAAGGAACTGGCAGAAC-3′

Reverse 5′-TTAAATGGGCCACACTCCTC-3′

ASK1 Forward 5’-GCTCCTGGTACAGCCATTGAAGA-3’

Reverse 5’-AGGACATCCACCAGCGTGTAATC-3’

p38 Forward 5’-ATGGGTGCATGTGTGCATGA-3’

Reverse 5’-CTACTGATGGCAGGAGCCTGTG-3’

β-actin Forward 5’-GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA-3’

Reverse 5’-GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG-3’

سنجش نیتریک اکساید

به منظور این سنجش از اندازه‌گیری سطح متابولیت‌های نیترات در محیط کشت با روش رنگ سنجی بر مبنای واکنش گریس استفاده شد. عامل گریس شامل سولفانامید و آمین آروماتیک N-(1-naphtyl)ethylenediamine است. این بررسی در دو مرحله انجام شد. مرحله اول دپروتئینه کردن می باشد که در ابتدا تداخل پروتئینی با مخلوط کردن ۴۰۰ میکرولیتر محیط رویی سلول های تیمار شده با ۶ میلی‌گرم پودر سولفات روی و سانتریفیوژ به مدت ۱۲ دقیقه در rpm ۱۲۰۰۰ و دمای ۵ °C حذف شد. مرحله بعدی سنجش نیتریت و نیترات تام بود. روش کار واکنش گریس براساس یک فرآیند دو مرحله ای است. مرحله اول تبدیل نیترات به نیتریت با استفاده از یک نیترات ردوکتاز است. در این مرحله در میکروپلیت های الایزا ابتدا ۱۰۰ میکرو لیتر از نمونه پروتئین زدایی شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

محلول کلرید وانادیوم III (۸ میلی گرم در میلی‌لیتر) اضافه شد تا نیترات ها به نیتریت تبدیل شوند. مرحله دوم اضافه کردن عامل گریس است که نیتریت را به ترکیب آزو با رنگ بنفش تبدیل می‌نماید. در این مرحله مخلوط سولفانامید و NEDD افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از انجام واکنش و تشکیل رنگ جذب نمونه‌ها در ۵۴۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر اندازه‌گیری شد. غلظت های مختلف سدیم نیترات به عنوان استاندارد استفاده شد.

به منظور آنالیز آماری داده‌ها از نسخه ۱۶ نرم‌افزار SPSS استفاده شد. سطح معنی‌داری تست‌های آماری در مورد همهی تست‌ها P <۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تمام داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار نشان داده شدند. از آزمون t-test و One-way Anova استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از تست کولموگروف-اسمیرنوف سنجیده شد.

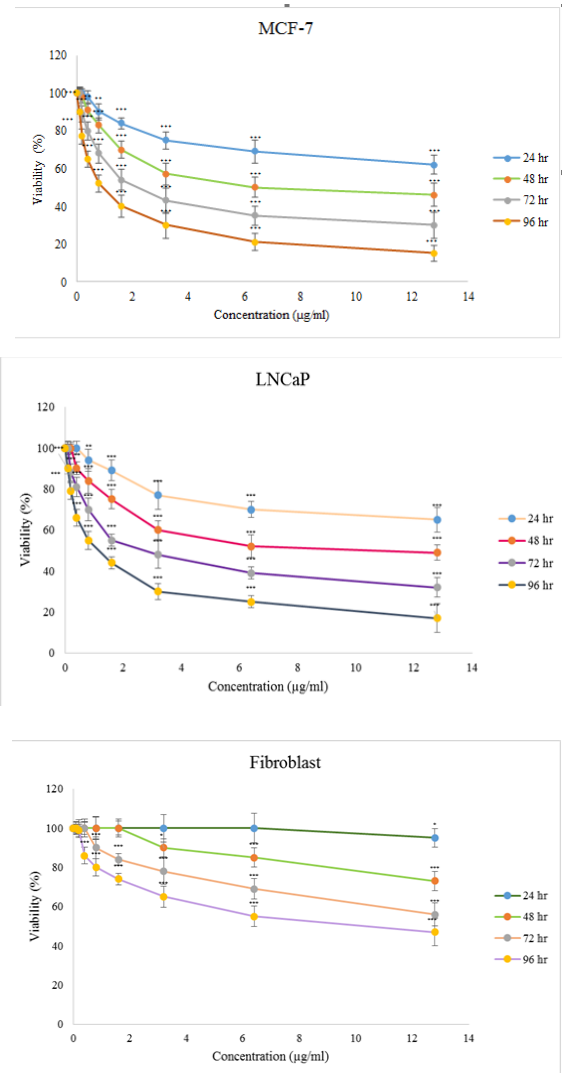
یافته‌ها

اثر عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا بر زنده مانی سلول ها

اثر غلظت‌های مختلف اسپیرولینا بر زنده ماندن سلول‌های MCF-7، LNCaP و فیبروبلاست در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است. پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت، اسپیرولینا زنده ماندن سلولی را به روشی وابسته به غلظت و زمان کاهش داد. مقادیر IC50 عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا برای سلول‌های MCF-7، LNCap و فیبروبلاست در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. کم‌ترین مقدار IC50 مربوط به رده سلولی MCF-7 و بیش‌ترین مقدار مربوط به سلول‌های فیبروبلاست بود.

جدول شماره ۱: مقادیر IC50 عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا بر حسب میکروگرم/میلی‌لیتر برای سلول‌های MCF-7، LNCap و فیبروبلاست بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تیمار

	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
MCF-7	۵۴/۲۳ ± ۲/۸۸	۶/۱۵ ± ۰/۱۹	۱/۰۵ ± ۰/۱۹	۰/۸۸ ± ۰/۰۴
LNCap	۶۷/۱۳ ± ۳/۱۰	۱۱/۷۵ ± ۰/۵۴	۳/۴۵ ± ۰/۳۳	۰/۹۰ ± ۰/۰۳
فیبروبلاست	۳۴۲۱/۹۷ ± ۹۷/۵۶	۱۰۰/۴۵ ± ۷/۸۳	۲۴/۸۶ ± ۱/۴۱	۱۲/۷۵ ± ۰/۷۹

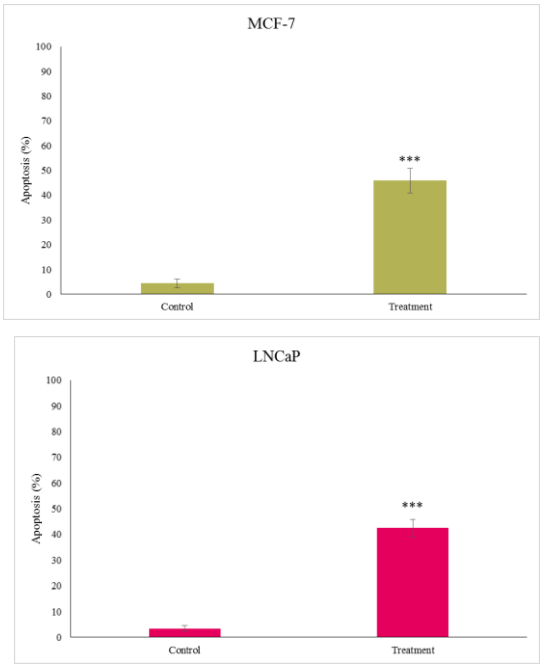


تصویر شماره ۱: اثر عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا بر زنده مانی سلول های MCF-7، LNCap و فیبروبلاست، زنده مانی با روش MTT سنجیده شد. داده ها میانگین ± S.E.M. مقادیر از سه آزمایش مستقل و به عنوان درصد نسبت به مقادیر کنترل بیان می شود، *: نشان دهنده P <۰/۰۵؛ **: نشان دهنده T۰/۰۱> و ***: نشان دهنده P <۰/۰۰۱ در مقایسه با کنترل

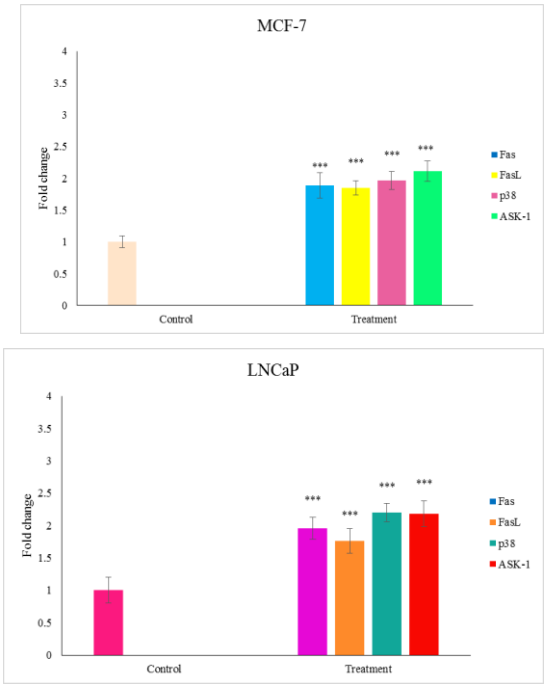
اثر عصاره هیدرالکلی اسپیرولینا برآپوپتوز سلول ها

اثر غلظت IC50 عصاره هیدرالکلی اسپیرولینا بر آپوپتوز در تصویر شماره ۲، نشان داده شده است. پس از ۲۴ ساعت، عصاره هیدرالکلی اسپیرولینا آپوپتوز را به صورت معنی‌داری به میزان ۱۰/۵ برابر و ۱۲/۵ برابر به ترتیب در رده‌های سلولی MCF-7 و LNCaP افزایش داد (P <۰/۰۵).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]



تصویر شماره ۲: اثر عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا بر آپوپتوز سلول‌های MCF-7 و LNCap آپوپتوز با روش رنگ‌آمیزی دی فنیل آمین سنجیده شد. داده‌ها میانگین ± S.E.M. مقادیر از سه آزمایش مستقل و به عنوان درصد نسبت به مقادیر کنترل بیان می‌شود. ***: نشاندهنده P <۰/۰۰۱ در مقایسه با کنترل



تصویر شماره ۳: اثر عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا بر بیان ژن مرتبط با مسیر آپوپتوز در سلول های MCF-7 و LNCaP بیان ژن توسط روش Real-time PCR سنجیده شد. داده ها میانگین ± S.E.M مقادیر از سه آزمایش مستقل و به عنوان درصد نسبت به مقادیر کنترل بیان می شود. ***: نشان دهنده P <۰/۰۰۱ در مقایسه با کنترل

اثر عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا بر بیان ژن های مرتبط با آپوپتوز

بیان برخی از ژن‌های دخیل در آپوپتوز (*ASK1*، *p38*، *Fas* و *FasL*) مورد سنجش قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت تیمار با غلظت IC50، اسپیرولینا افزایش معنی‌دار در بیان ژن‌های مورد سنجش در هر دو رده سلولی سرطانی مشاهده شد (P <۰/۰۵) (تصویر شماره ۳). این افزایش به میزان ۱/۸۹، ۱/۸۵، ۱/۹۷ و ۲/۱۱ برابر در رده سلولی MCF-7 و ۱/۹۶، ۱/۷۶، ۲/۲ و ۲/۱۸ برابر در رده سلولی LNCaP به ترتیب برای ژن‌های *Fas*، *FaL*، *p38* و *ASK1* بود.

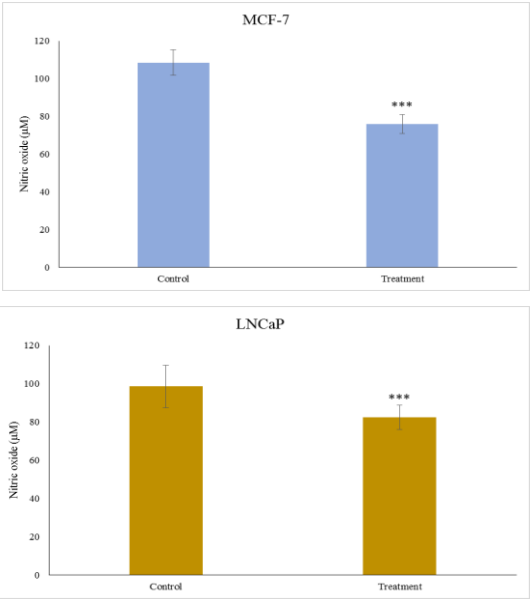
اثر عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا بر تولید نیتریک اکساید

هم‌چنین تولید نیتریک اکساید مورد سنجش قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت تیمار با غلظت IC50، کاهش معنی‌دار میزان نیتریک اکساید در هر دو رده سلولی سرطانی مشاهده شد (P <۰/۰۵) (تصویر شماره ۴).

بحث

در این مطالعه خواص ضد سرطان اسپیرولینا بررسی شد. غلظت‌های مختلف اسپیرولینا پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت، زنده ماندن سلولی را به روشی وابسته به غلظت در سلول‌های MCF-7، LNCaP و فیبروبلاست کاهش داد. در مرحله بعد IC50 برای هر رده سلولی محاسبه شد. این مقادیر نشان‌دهنده این موضوع است که سلول‌های سرطان پستان بیش‌ترین حساسیت را به اثرات سمی نشان دادند و حساسیت سلول‌های سرطان پروستات کم‌تر از سرطان پستان بود. مقدار IC50 خیلی بالا سلول‌های نرمال فیبروبلاست نشان دهنده اثرات سمی بسیار خفیف برای سلول‌های غیر سرطانی می‌باشد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]



تصویر شماره ٤: اثر عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا بر تولید نیتریک اکساید در سلول های MCF-7 و LNCaP بیان ژن توسط روش Real-time PCR سنجیده شد. داده ها میانگین ± S.E.M مقادیر از سه آزمایش مستقل و به عنوان درصد نسبت به مقادیر کنترل بیان می شود. ***: نشان دهنده ($P <$ ۰/۰۰۱) در مقایسه با کنترل

کشف عوامل موثر جدید برای درمان سرطان یکی از موضوعات جالب و چالش برانگیز در صنعت داروسازی است. اکثر عوامل شیمی‌درمانی عوارض جانبی جدی مانند سرکوب مغز استخوان ایجاد می‌کنند(۱۵). از این رو، توسعه یک عامل ضد سرطان جدید با عوارض جانبی کم‌تر، یک چالش بزرگ در درمان سرطان است.

اثر ضد سرطانی اسپیرولینا در مطالعات قبلی نیز بررسی شده است. در یک مطالعه مکانیزم ضد سرطان فیکوسیانین (PC) از اسپیرولینا بررسی شده است. PC با کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون هیدروکسیل آپاتیت خالص شد. در این مطالعه تأثیر PC بر تکثیر سلول‌های Hela (سرطان سرویکس) با روش MTT و بیان پروتئین Fas به روش ایمونوهیستوشیمی تعیین شد. نتایج نشان داد که PC می‌تواند بیان پروتئین CD59 را در سلول‌های هلا تقویت کند و از تکثیر سلول‌های Hela جلوگیری کند(۸). نتایج این مطالعه تایید کننده مطالعه حاضر می‌باشد.

هم‌چنین خواص ضد سرطان C-Phycocyanin، یک ماده طبیعی دریایی خالص شده از اسپرولینا مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعه نشان داد که C-phycocyanin از تکثیر سلولی جلوگیری می‌کند و توانایی تشکیل کلونی سلول‌های MDA-MB-231 را کاهش می‌دهد(۹). نتایج این مطالعه تایید کننده مطالعه حاضر می‌باشد.

بررسی اثر غلظت IC50 اسپیرولینا بر آپوپتوز نشان داد که پس از ۲۴ ساعت، آپوپتوز را به صورت معنی‌داری در هر دو رده سلول سرطانی افزایش داد ($P <$ ۰/۰۵). مطالعه قبلی نیز نشان داد C-phycocyanin باعث توقف چرخه سلولی G0/G1 با کاهش سطح بیان پروتئین Cyclin D1 و CDK-2 و افزایش سطح بیان پروتئین p21 و p27 شد. علاوه بر این، C-phycocyanin با فعال کردن مسیر گیرنده مرگ سطح غشای سلولی باعث آپوپتوز سلولی شد(۹). نتایج این مطالعه تایید کننده مطالعه حاضر می باشد.

سپس بیان برخی از ژن‌های دخیل در آپوپتوز مورد سنجش قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت تیمار با غلظت IC50، اسپیرولینا افزایش معنی‌دار در بیان ژن‌های *ASK1*، *p38*، *Fas* و *FasL* در هر دو رده سلولی سرطانی مشاهده شد ($P <$ ۰/۰۵).

مطالعات قبلی نشان داده است که فیکوسیانین PC بیان پروتئین CD59 و پروتئین Fas القا کننده آپوپتوز را افزایش می دهد و فعالیت تکثیر سلول‌های Hela کاهش یافت، در حالی که PC بر بیان پروتئین CD59 و Fas و تولید مثل سلول‌های غیرسرطانی طبیعی هیچ تاثیری نداشت(۸). نتایج این مطالعه تایید کننده مطالعه حاضر می‌باشد.

نشان داده شده است که مرگ سلولی ناشی از C-phycocyanin از طریق مسیرهای سیگنالینگ MAPK انجام شده است. C-Phycocyanin قادر به القای آپوپتوز سلولی MDA-MB-231 با فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ MAPK p38 و JNK بود و در عین حال مسیر ERK را مهار می‌کرد و این نتایج همسو با نتایج مطالعه حاضر می باشد(۹).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

در شرایط پاتولوژیک، به‌ویژه سرطان، سلول‌ها توانایی خود را برای آپوپتوز از دست می‌دهند که منجر به تکثیر کنترل نشده می‌شود، بنابراین القای آپوپتوز می‌تواند راهبردی مطلوب در برابر سرطان باشد(۱۶). القای آپوپتوز یکی از مهم‌ترین نشانگرهای عوامل ضد تومور سیتوتوکسیک است. برخی از ترکیبات طبیعی باعث ایجاد مسیرهای آپوپتوز می‌شوند که از طریق مکانیسم‌های مختلف در سلول‌های سرطانی مسدود می‌شوند. نظرسنجی‌های متعدد گزارش کردند که افراد مبتلا به سرطان معمولا از گیاهان یا محصولات گیاهی استفاده می کنند. آلکالوئیدهای Vinca، Texans، Podo phyllotoxin، Camptothecins از نظر بالینی به عنوان عوامل ضد سرطان مشتق شده از گیاه استفاده می‌شود. ترکیبات فنلی رژیم غذایی انسان شامل مجموعه‌ای از پلی‌فنول‌های گیاهی است. مطالعات نشان داده است که این فنل‌ها اثرات سیتوتوکسیک بر تومورهای مختلف دارند. مکانیسم این ترکیبات از طریق آپوپتوز انجام می‌شود. کورکومین (دیفرولیلیل متان) یک ترکیب فنلی است که از ریزوم گونه کورکوما به دست می‌آید. با استفاده از کورکومین، تحقیقات پیش از بالینی سرطان نشان داده است که این گیاه در اکثر سرطان‌ها از جمله کولورکتال، لوزالمعده، معده و پروستات، روند سرطان‌زایی را مهار می‌کند. هم‌چنین در مراحل مختلف سرطان زا، تکثیر، رگزایی و متاستاز موثر است. علاوه بر این، کورکومین به عنوان یک حساس کننده شیمیایی عمل می‌کند و منجر به افزایش فعالیت سایر عوامل ضد سرطانی در درمان سرطان های مقاوم به چند دارو و مقاوم به شیمی‌درمانی می‌شود. از این رو، کورکومین از طریق مسدود کردن مسیر سیگنالینگ NF-Kβ پاسخ سلول های تومور به دوکسوروبیسین را افزایش می‌دهد. مطالعات کارآزمایی بالینی فاز دوم نشان داده‌اند که کورکومین با دوز ۸۰۰۰ میلی‌گرم در روز برای انسان سمی نیست. Ginger یک ترکیب فنلی است که از ریزوم آن در طب سنتی استفاده زیادی می شود. ترکیبات فنلی این گیاه از طریق آپوپتوز در سلول‌های سرطانی فعالیت سیتوتوکسیک نشان می‌دهد. رسوراترول یک فیتوالکسین است که در انگور یافت می شود. نشان داده شد که رسوراترول باعث آپوپتوز در سلول‌های HL60 و T47D (سلول‌های سرطان پستان) می‌شود. این ماده آپوپتوز را از طریق آپوپتوز وابسته به سیگنال CD95 در سلول‌های HL60 و T47D القا می‌کند. علاوه بر این، نشان داده شد که چنین کمپلکسی بیان CD95L را در سلول‌های HL60 و T47D افزایش می‌دهد. فلاونوئید مطالعات اولیه نشان داد که پلی هیدروکسی فنل‌ها مانند فلاونوئیدها باعث بروز کم سرطان کولون و سینه می‌شوند. جنستئین یک فیتواسترول متعلق به خانواده فلاونوئیدها است. القای آپوپتوز توسط جنیستئین در سلول‌های لوسمی HL-60 پرومیلوسیتی انسانی با استفاده از آنالیز فلوسایتومتری تایید شده است. Biocalein یک فلاونوئید موجود در داروهای گیاهی شو-سایکو-تو است که باعث القای آپوپتوز در رده‌های سلولی کارسینوم سلولی کبدی (HCC) می‌شود. از طریق مهار توپوایزومراز II عمل می‌کند. کوئرستین توسط کورستین تحریک شده از طریق آزادسازی سیتوکروم-c به سیتوزول و فعال شدن کاسپاز ۹/۲۰ آپوپتوز را القا می کند. (UCN-01) 7-hydroxystaurosporine Alkaloids یک آلکالوئید است که اثرات سیتوتوکسیک سمیت سلولی سیس-دیامین دی کلروپلاتین II و آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی تخمدان افزایش می دهد. علاوه بر این، UCN-01 با ۵-فلوراسیل اثر هم افزایی بر روی تولید آپوپتوز دارد. Sugiyama و همکاران (۱۷) نشان دادند که القای آپوپتوز و مهار چرخه سلولی در فازهای G1 مهم‌ترین عامل تعیین کننده حساسیت سلول‌های سرطانی به UCN-01 است و کاهش در سطح بیان چرخه نقش مهمی در ممانعت از چرخه سلولی در فاز G1 توسط UCN دارد. لکتین‌ها برای چندین سال، Viscum album L (VAL) در درمان کمکی سرطان

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

استفاده شده است. VAL سیستم ایمنی را تحریک می‌کند و به طور خاص فعالیت و تعداد سلول‌های NK و نوتروفیل‌ها را افزایش می‌دهد. در مطالعه دیگری، لکتین سیتوتوکسیک (KML-C) جدا شده از عصاره داروا‌ش کره‌ای (Viscumalbum C (coloratum اثرات سیتوتوکسیک و آپوپتوز را بر سلول‌های تومور نشان داد(۱۸). Xanthorrhizol Terpenoids یک کمپلکس ترپوئیدی سسکی است که از ریزوم (zingerberaceae) curcuma xanthorrhizza Roxb مشتق شده است. مطالعات مختلف in vivo نشان داده است که Xanthorrhizol از تشکیل و توسعه تومورها جلوگیری می‌کند. بیان پروتئین اورنیتین دکربوکسیلاز، سیکلواکسژناز-۲ (cox-2) را کاهش می‌دهد و فعالیت سیگنالینگ NF-KB را سرکوب می‌کند. علاوه بر این، نشان داده شد که Xanthorrhizol از طریق کاهش cox-2 و ماتریکس متالوپپتیداز ۹ (MMP-9) در مدل متاستاز ریه موش in vivo، فعالیت متاستاتیکی را اعمال می‌کند(۱۹).

مسیر سیگنالینگ (MAPK) p38 mitogen-activated protein kinase را می‌توان با انواع محرک‌ها فعال کرد. تنظیم و نقش این مسیر در آپوپتوز ناشی از گیرنده مرگ نامشخص است و ممکن است به گیرنده مرگ خاص و نوع سلول بستگی داشته باشد. نشان داده شده است که اتصال لیگاند Fas به Fas، p38 MAPK را در سلول‌ها فعال می‌کند و فعال‌سازی این مسیر برای مرگ سلول‌ها با واسطه Fas لازم است. فعال p38 MAPK Bcl-xL و Bcl-2 را فسفریله می‌کند و از تجمع این مولکول‌های ضد آپوپتوز در داخل میتوکندری جلوگیری می‌کند. در نتیجه، از دست دادن پتانسیل غشای میتوکندری و آزاد شدن سیتوکروم c منجر به فعال شدن کاسپاز ۹ و متعاقباً کاسپاز ۳ می‌شود. بنابراین، فعال شدن p38 MAPK یک پیوند مهم بین Fas و مسیر مرگ میتوکندری برای القا آپوپتوز سلول‌ها است(۲۰).

هم‌چنین نتایج این مطالعه نشان داد که اسپیرولینا دارای اثرات مهاری بر تولید نیتریک اکساید در سلول‌های سرطان پستان و پروستات بود.

یافته‌های متناقض قابل توجهی در مقالات در مورد اثرات دو وجهی نیتریک اکساید در سرطان‌زایی و پیشرفت تومور وجود دارد که پیامدهای مهمی برای درمان دارد. چندین مطالعه پیش بالینی و بالینی نشان داده‌اند که اثرات جانبی و ضد توموری نیتریک اکساید به جنبه‌های مختلفی از جمله، سطح تولید، محیط اکسیداتیو/کاهشی (اکسیداتیو/کاهشی) که در آن این رادیکال در آن قرار می‌گیرد، وجود یا عدم وجود عناصر انتقال نیتریک اکساید و ریزمحیط تومور بستگی دارد(۲۱). به‌طور کلی، چهار دسته اصلی از درمان‌های ضد سرطان مبتنی بر نیتریک اکساید وجود دارد. این چهار دسته شامل، اهدا کنندگان نیتریک اکساید، مهارکننده‌های فسفودی استراز (PDE-i) (Phosphodiesterase Inhibitors)، فعال کننده‌های محلول گوانیلیل سیکلاز (Guanylyl Cyclase) (sGC) و تعدیل کننده‌های ایمنی می‌باشد(۲۱).

سرکوب بیان FasL توسط تعدادی از عوامل از جمله نیتریک اکساید نشان داده شده است. نیتریک اکساید بیان FasL و آپوپتوز را با تداخل در توانایی AP-1 برای القای بیان FasL مهار می‌کند(۲۲). احتمالا عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا از طریق کاهش غلظت نیتریک اکساید داخل سلولی باعث افزایش بیان FasL و القا مسیر Fas/FasL-ASK1-p38 می‌شود.

از جمله محدودیت‌های اصلی این مطالعه عدم جداسازی اجزای تشکیل دهنده عصاره هیدروالکلی اسپیرولینا به منظور یافتن جز یا اجزای مسئول خواص ضد سرطانی و القا کننده آپوپتوز این عصاره می باشد که برای مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود.

اسپیرولینا دارای اثرات ضد تکثیری بر سلول های سرطان پستان و پروستات است و باعث القا آپوپتوز از طریق کاهش سطح نیتریک اکساید درون سلولی و فعالسازی مسیر Fas/FasL-ASK1-p38 می‌شود.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

سپاسگزاری

پـژوهش فـوق حاصـل طـرح تحقیقـاتی مصـوب دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه بـا کـد ۴۰۳۰۰۸۱ اسـت که در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه انجام گرفته است. دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه حامی مالی این مقاله مـی‌باشـد. هـیچ‌گونـه تعـارض منـافع بـین نویسندگان وجود ندارد. نویسـندگان ایـن مقالـه نهایـت تشکر و قدردانی خود را از معاونت تحقیقات و فنـاوری دانشگاه اعلام می‌دارند.

References

1. Anand P, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Tharakan ST, Lai OS, et al. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. Pharm Res 2008; 25(9): 2097-2116. PMID: 18626751.
2. Kushi LH, Doyle C, McCullough M, Rock CL, Demark-Wahnefried W, Bandera EV, et al. American Cancer Society Guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. CA Cancer J Clin 2012; 62(1): 30-67. PMID: 22237782.
3. Rawla P. Epidemiology of Prostate Cancer. World J Oncol 2019; 10(2): 63-89. PMID: 31068988.
4. Łukasiewicz S, Czeczelewski M, Forma A, Baj J, Sitarz R, Stanisławek A. Breast Cancer-Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies-An Updated Review. Cancers (Basel) 2021; 13(17): 4287. PMID: 34503097.
5. Tobiume K, Matsuzawa A, Takahashi T, Nishitoh H, Morita K, Takeda K, et al. ASK1 is required for sustained activations of JNK/p38 MAP kinases and apoptosis. EMBO Rep 2001; 2(3): 222-228. PMID: 11266364.
6. Hosseini S, Shahbazizadeh S, Khosravi-Darani K, Mozafari M. Spirulina paltensis: food and function. Curr Nutr Food Sci 2013; 9: 189-193.
7. Parvin M, Habib MA, Huntington T, Hasan M. A review on culture, production and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. Aquaculture 2008; 33: 1-33.
8. Li B, Zhang X, Gao M, Chu X. Effects of CD59 on antitumoral activities of phycocyanin from Spirulina platensis. Biomed Pharmacother 2005; 59: 551-560. PMID: 16271846.
9. Jiang L, Wang Y, Liu G, Liu H, Zhu F, Ji H, et al. C-Phycocyanin exerts anticancer effects via the MAPK signaling pathway in MDA-MB-231 cells. Cancer Cell Int 2018; 18: 12. PMID: 29416441.
10. Jiang L, Wang Y, Yin Q, Liu G, Liu H, Huang Y, et al. Phycocyanin: a potential drug for cancer treatment. J Cancer 2017; 8: 3416-3429. PMID: 29151925.
11. Small E. Spirulina - food for the universe. Biodiversity 2011; 12: 255-265.
12. Lu J, Ren DF, Xue YL, Sawano Y, Miyakawa T, Tanokura M. Isolation of an antihypertensive peptide from alcalase digest of spirulina platensis**.** J Agric Food Chem 2010; 58: 7166-7171. PMID: 20509691.
13. Khazaei M, Pazhouhi M, Khazaei S. Temozolomide and tranilast synergistic antiproliferative effect on human

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]

glioblastoma multiforme cell line (U87MG). Med J Islam Repub Iran 2019; 33: 39. PMID: 31456963.

14. Abdolmaleki A, Pazhouhi M, Rashidi I, Heshmati S, Jalili C, Khani-Hematabadi F. Molecular Basis of Apoptosis Induced by Taraxasterol on Human Melanoma Cell Line Growth Inhibition: An in-Vitro Study. J Adv Med Biomed Res 2024; 32(153): 288-298.
15. Pan Y, Ma S, Cao K, Zhou S, Zhao A, Li M, et al. Therapeutic approaches targeting cancer stem cells. J Cancer Res Ther 2018; 14(7): 1469-1475. PMID: 30589025.
16. Mohammad RM, Muqbil I, Lowe L, Yedjou C, Hsu HY, Lin LT, et al. Broad targeting of resistance to apoptosis in cancer. Semin Cancer Biol 2015; 35: S78-S103. PMID: 25936818.
17. Sugiyama K, Akiyama T, Shimizu M, Tamaoki T, Courage C, Gescher A, Akinaga S. Decrease in susceptibility toward induction of apoptosis and alteration in G1 checkpoint function as determinants of resistance of human lung cancer cells against the antisignaling drug UCN-01 (7-Hydroxystaurosporine). Cancer Res. 1999 Sep 1;59(17):4406-12. PMID: 10485490.
18. Yoon TJ, Yoo YC, Kang TB, Shimazaki K, Song SK, Lee KH, Kim SH, Park CH, Azuma I, Kim JB. Lectins isolated from Korean mistletoe (Viscum album coloratum) induce apoptosis in tumor cells. Cancer Lett. 1999 Feb 8;136(1):33-40. doi: 10.1016/s0304-3835(98)00300-0. PMID: 10211936.
19. Safarzadeh E, Sandoghchian Shotorbani S, Baradaran B. Herbal medicine as inducers of apoptosis in cancer treatment. Adv Pharm Bull 2014; 4(Suppl 1): 421-427. PMID: 25364657.
20. Farley N, Pedraza-Alva G, Serrano-Gomez D, Nagaleekar V, Aronshtam A, Krahl T, et al. p38 mitogen-activated protein kinase mediates the Fas-induced mitochondrial death pathway in CD8+ T cells. Mol Cell Biol 2006; 26(6): 2118-2129. PMID: 16507991.
21. Mintz J, Vedenko A, Rosete O, Shah K, Goldstein G, Hare JM, et al. Current Advances of Nitric Oxide in Cancer and Anticancer Therapeutics. Vaccines (Basel) 2021; 9(2): 94. PMID: 33513777.
22. Kavurma MM, Khachigian LM. Signaling and transcriptional control of Fas ligand gene expression. Cell Death Differ 2003; 10(1): 36-44. PMID: 12655294.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-24]