شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

دوره ۷۱، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷

صفحات ۲۱۵-۲۰۸

تاثیر استرول‌های استخراج شده از جلبک قرمز خلیج فارس بر کلاژن سلول‌های پوست انسان

فاطمه پیشه‌ورزاد[۱]، سید ولی حسینی[۲]، حمید فرحمند[۳]، ماریانو لاسترا[۴]، سونیا لوپز[۵]*

۱. دانش آموخته دکتری گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۳. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۴. مرکز علوم دریایی تورایا، جزیره تورایا، ویگو، اسپانیا.
۵. گروه ژنتیک، بیوشیمی و ایمونولوژی، دانشگاه ویگو، ویگو، اسپانیا.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۱۷ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۹/۳۰

چکیده

پیری پوست با افزایش تنظیم بیان ماتریکس متالوپروتئیناز (MMP) و کاهش تنظیم سنتز کلاژن همراه است. استرول‌های استخراج شده از جلبک‌های دریایی، به‌عنوان مواد ضدسرطان و ضدکسیدان گزارش شده‌اند که این خواص می‌تواند نشان از پتانسیل مناسبی جهت خواص ضدچروک در پوست انسان باشد. در این تحقیق، جهت بررسی سنتز پروکلاژن در سلول‌های پوست انسان، استرول‌های استخراج شده از جلبک قرمز خلیج فارس *Gracilaria salicornia* در غلظت‌های ۱/۷، ۳/۵، ۷، ۱۴، ۲۸، ۵۶ و ۱۱۲میکروگرم بر میلی‌لیتر مورد سنجش قرار گرفت، همچنین برای تعیین دز قابل استفاده از این پیش‌ماده دارویی، تست سمیت سلولی بر رده فیبروبلاست پوست انسان در غلظت‌های ۲/۳، ۴/۶، ۹/۳، ۱۸، ۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره استرولی جلبک گراسیلاریا سالیکورنیا آزمایش شد. نتایج حاکی از افزایش سنتز پروکلاژن در سلول‌های پوست با افزایش غلظت استرول‌ها و نیز عدم سمیت این ماده در دزهای مورد نیاز درمانی بوده است. IC_{50} عصاره‌ها برای سلول‌های فیبروبلاست پوست انسان غلظت ۱۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر را نشان داد، همچنین اثرگذاری عصاره‌ها در افزایش کلاژن پوست با سطح معنی‌داری در غلظت‌های ۱/۷۵ تا ۱۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر قابل مشاهده بود (P<۰/۰۰۰۱). بنابراین استرول‌های استخراج شده بدلیل تاثیر بر سنتز پروکلاژن سلول‌های پوست، می‌توانند نقش موثری بر کاهش فرایند پیری پوست بازی کنند. تحقیقات بیشتری برای سایر کاربردهای ترکیبات استرولی جلبک‌ها در جهت استفاده از محصولات آرایشی-بهداشتی مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: پروکلاژن، سمیت سلولی، استرول، جلبک قرمز خلیج فارس، ترمیم پوستی، *Gracilaria salicornia*.

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۴۴-۳۲۲۲۳۰۴۶+۹۸ ایمیل: hosseinisv@ut.ac.ir

۱. مقدمه

پیری پوست باعث ایجاد چروک و از بین رفتن رنگدانه‌ها می‌گردد (Kim *et al.*, 2008). همان‌طور که پوست دچار پیری می‌شود، لایه درمیس پوست، الاستین و کلاژن خود را از دست می‌دهد و در نتیجه الاستیسیته‌ی پوست از بین رفته و منجر به ایجاد چروک می‌گردد. چروک‌های پوستی به‌صورت طبیعی به گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species (ROS)) نسبت داده می‌شوند که به‌وسیله استرس‌های اکسیداتیو ایجاد می‌شود. چنانچه در شکل ۱ نیز آورده شده است، ROS، میتوژن-کینازهای پروتئینی فعال شده MAPK (Mitogen-activated protein kinase) که رونویسی فاکتور فعال‌کننده‌ی پروتئین ۱ را فسفریلید می‌کند، تحریک می‌نماید. MAPK خود تنظیم کنندگی ماتریکس متالوپروتئیناز (MMPs) که در کاهش کلاژن پوست شرکت دارد را برعهده داشته و در نهایت موجب پیری پوست می‌گردد (Fisher *et al.*, 1996; Rittié and Fisher 2002).

MMPها اندوپروتئینازهای وابسته به روی هستند و باعث تخریب کلاژن‌ها در ماتریکس خارج سلولی می‌شوند که حمایت ساختاری از پوست را فراهم می‌آورد. به‌طور خاص، MMP-1، پروکلاژن نوع I را کاهش می‌دهد (Fisher *et al.*, 2001). از این‌رو، زمانی که پوست در برابر اشعه ماوراء بنفش قرار گرفته و MMPها تحریک می‌شوند، سنتز پروکلاژن نوع I سرکوب می‌شود (Fisher *et al.*, 2000). بنابراین، عوامل مؤثر بر کاهش تولید MMP-1 و ترویج سنتز پروکلاژن نوع I ممکن است برای جلوگیری و درمان پوست‌های آسیب دیده با اشعه‌های شدید آفتاب مفید باشد (Wang *et al.*, 2014).

یکی از راه‌های جلوگیری از پیری پوست و چروک‌ها، منابع فیتواسترول طبیعی می‌باشند. عصاره‌های گیاهی غنی از ترکیبات شیمیایی گیاهی همانند فلاوونوئیدها، فنولیک اسیدها، توکوفرول‌ها، آلکالوئیدها و مونوترپن‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده و به صورت گسترده در محصولات آرایشی-بهداشتی ضد چروک بکار می‌روند (Verschooten *et al.*, 2006).

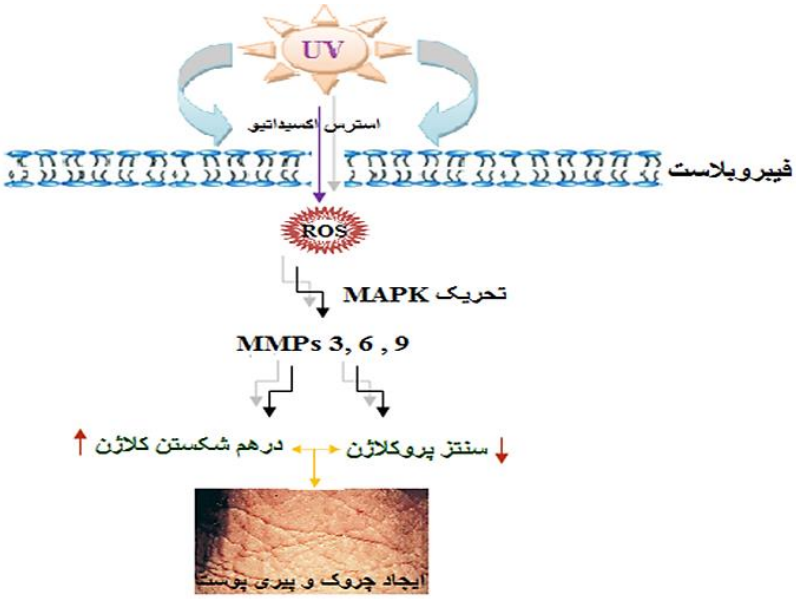
فیتواسترول‌های جدا شده از جلبک‌های قهوه‌ای *Hizikia fusiformis* فعالیت‌های زیستی مختلفی نظیر ضدسرطان (Khanavi *et al.*, 2012)، کاهش کلسترول (Tapiero *et al.*, 2003) و فعالیت‌های ضددیابت (Lee *et al.*, 2004) را از خود نشان داده‌اند.

فیتواسترول می‌تواند فعال‌سازی آنزیم در کراتینوسیت‌ها را تنظیم نموده و همچنین، بتا-سیتوسترول‌ها که از انواع استرول‌های گیاهی هستند، می‌توانند برای جلوگیری از پیری استفاده شوند. فوکسترول‌ها نیز دارای فعالیت‌های ضداکسیدکننده در بدن می‌باشند (Lee *et al.*, 2003).

گیاهان داروئی فعالیت بازدارندگی کلاژناز و الاستاز را انجام می‌دهند، که رشته‌های الاستین و کلاژن را تقویت می‌کند، و نیز اثرات آنتی‌اکسیدانی ناشی از این گیاهان می‌تواند نقش حائز اهمیتی را در به تعویق انداختن فرایند پیری پوست بازی کند و پتانسیل خوبی در جهت پیشبرد اهداف آرایشی-بهداشتی داشته باشد.

جلبک‌ها از منابع عظیمی از گیاهان دریایی به حساب می‌آیند. امروزه این موجودات به‌دلیل داشتن ترکیبات متعدد و کاربردی که دارای اثراتی همچون اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی، ضدقارچی، ضد-ویروسی، سیتوتوکسیک و ... می‌باشند، توجه بسیاری از محققان و صاحبان صنایع داروئی، درمانی و آرایشی-بهداشتی را به خود جلب کرده‌اند. از جمله ترکیباتی که جلبک‌ها را منبع خوبی برای تحقیقات گسترده نموده‌است، کاروتنوئیدها، فنل آزاد و همچنین اسید چرب با ساختار شیمیایی خاص می‌باشد که جاذب رادیکال‌های آزاد بوده و می‌توانند اکسیژن تکی را دفع کنند و خاصیت آنتی‌اکسیدانی و سیتوتوکسیسیته را بروز دهند (Gibbs *et al.*, 2002; Raja *et al.*, 2007; Kohen and Nyska, 2002; Poppel and Goldbohm, 1995).

به‌طور خلاصه، از آن‌جایی که استرول‌ها اجزای ضروری غشای سلولی هستند، و با در نظر گرفتن نتایج پژوهش‌های محققین، می‌توانیم به این فرضیه برسیم که استرول‌های جلبکی قابلیت محافظت از فیبروبلاست‌های طبیعی پوست انسان در برابر تنش-های اکسیداتیو را دارا می‌باشند. بنابراین در این تحقیق، تاثیر ترکیبات استرولی حاصل از جلبک گراسیلاریا سالیکورنیا بر میزان تولید پروکلاژن سلول-های فیبروبلاست پوست انسان و نیز خواص سمیت سلولی این ترکیبات بر رده‌ی سلولی مذکور را مورد



شکل ۱ – مسیر تاثیر ROS بر فیبروبلاست پوست و ایجاد چروک‌های پوستی.

بررسی قرار می‌دهیم.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه نمونه

جلبک قرمز *Gracilaria salicornia* (C. Award Dawson) از منطقه جزر و مدی جزیره قشم جمع‌آوری شده و درون بسته‌های پلاستیکی به آزمایشگاه دانشگاه بین‌الملل قشم انتقال داده شد. نمونه‌ها ابتدا با آب شیرین شسته شده و کاملا نمک-زدایی گشتند. پس از خشک‌شدن ابتدایی جلبک‌ها در دمای اتاق، به دور از نور خورشید و آلودگی، به وسیله‌ی دستگاه فریز-درایر (Lyolpha، مدل ۵۰-۶) لیوفیلیزه گشته و سپس پودر شدند.

۲.۲. عصاره‌گیری

استرول‌ها از بافت جلبکی به وسیله‌ی حلال استون عصاره‌گیری شدند. ۱۰ گرم از جلبک خشک و پودر شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر از استون در دمای اتاق (۲۵°C) درون ارلن و به دور از نور خورشید خیسانده شده و پس از ۷۲ ساعت توسط دستگاه روتاری (Buchi B-491، ساخت کشور سوئیس) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد حلال‌پرانی شد.

۳.۲. ساپونیفیکیشن

این مرحله شامل ساپونیفیکیشن نمونه‌ها و استخراج بخش غیرقابل ساپونیفیکیت می‌باشد. پس از حلال‌پرانی، ۵ میلی‌گرم از عصاره‌ی استونی بدست آمده، در ۵۰۰ میکرولیتر از متانول حل شده و سپس ۵۰۰ میکرولیتر هیدروکسید پتاسیم به محلول اضافه گردید. محلول به مدت یک ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بخش غیرقابل ساپونیفیکیت دو بار با اضافه نمودن ۵۰۰ میکرولیتر از هگزان عصاره-گیری شد. عصاره‌گیری به کمک سانتریفیوژ کردن محلول بعد از افزودن هگزان و جدا کردن لایه‌ی بالایی انجام شد. حلال‌ها با استفاده از گاز نیتروژن تبخیر شد (Lu *et al*., 2007).

۴.۲. عصاره‌گیری فاز جامد (Solid Phase Extraction (SPE))

در مرحله‌ی اول، کارتریج سیلیکا (Milford، USA) جهت بالا بردن قدرت باند شدن با ترکیبات استرولی، با ۵ میلی‌لیتر هگزان شسته شد. عصاره بدست آمده از مرحله‌ی قبل، در ۱ میلی لیتر از حلال هگزان- اتیل استات (v/v، ۹۵:۵) حل شد. سپس فرکشن استرول با ۵ میلی‌لیتر از مخلوط هگزان-اتیل استات (v/v، ۶۰:۴۰) شسته شده و در پایان جهت بدست آوردن عصاره‌ی خشک، حلال‌ها با گاز نیتروژن تبخیر گشتند (Lu *et al*., 2007).

۵.۲. کشت سلول

رده سلولی فیبروبلاست پوست انسان (Human Dermal Fibroblast (HDF)) از مجموعه‌ی کشت آمریکا تهیه شد. ابتدا سلول‌ها در شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۵ درصد CO_2 در محیط کشت، که محیط کشت مخصوص سلول‌های HDF می‌باشد، کشت داده شدند. سلول‌ها پس از پاساژ دادن در میکروپلیت ۹۶ خانه با تراکم $۱۰^۴$*۱ سلول در هر خانه کاشته شده و به‌مدت ۲۴ ساعت جهت چسبیدن به کف پلیت انکوبه گشتند. پس از این زمان، استرول‌های جلبکی با غلظت‌های ۲/۳، ۴/۶، ۹/۳، ۱۸، ۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، برای تست سمیت سلولی و با غلظت‌های ۱/۷، ۳/۵، ۷، ۱۴، ۲۸، ۵۶ و ۱۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر جهت تست پروکلاژن، به هر خانه اضافه شده و به‌مدت ۷۲ ساعت درون انکوباتور باقی ماندند. در ادامه پس از کشت سلول‌ها، ابتدا تست سمیت سلولی و بعد از مشخص شدن IC_{50} عصاره‌ها، تست پروکلاژن روی این سلول‌ها مورد آزمایش قرار گرفت.

۶.۲. سازگاری نسجی ترکیبات استروئید

فیبروبلاست‌های تهیه شده از انستیتو امریکا، در محیط کشت DMEM (Dulbecco's modified of Eagle medium) کشت داده می‌شوند. ترکیبات استخراج شده برای تست سمیت سلولی آزمایشگاهی کوتاه مدت براساس استاندارد ISO 10993-12 آماده خواهد شد. برای این منظور، هر ترکیب به‌مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در ۱ میلی‌لیتر محیط کشت کامل انکوبه می‌گردد.

محیط عصاره‌های جمع‌آوری شده به کشت فیبروبلاست پوست انسان که به‌صورت اولیه با تراکم ۴×۱۰۰ چاهک/ سلول، در پلیت‌های ۹۶ خانه کشت داده می‌شوند، با غلظت‌های مختلف و به‌روش رقت-دهی، اضافه شده و به مدت ۲۴ ساعت باقی می‌ماند. تست رنگ بر اساس متیل تترازولیوم (Methyl Tetrazolium (MTT)) برای ارزیابی میزان حیات سلولی مورد استفاده قرار خواهد گرفت. فقط سلول‌های زنده قادر هستند MTT را به فرمازان کاهش بدهند، که قابل حل در SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) می‌باشد. اندازه‌گیری جذب فورمازان در طول موج ۵۷۰ نانومتر متناسب با تعداد سلول‌های زنده است (Rubis *et al.*, 2008). نتایج توسط میکروپلیت ریدر (Perkin Elmer، ساخت کشور امریکا) با طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. بازماندگی سلول‌ها با فرمول زیر مورد محاسبه قرار گرفت.

بازماندگی سلول‌ها (٪) = ۱۰۰*میزان جذب کنترل منفی/ میزان جذب تیمار

منحنی‌های پاسخ غلظت‌ها رسم شده و مقادیر IC_{50} با نرم افزار Graph Pad Prism 7.3 مورد محاسبه قرار گرفت. هر آزمایش ۵ بار تکرار شد.

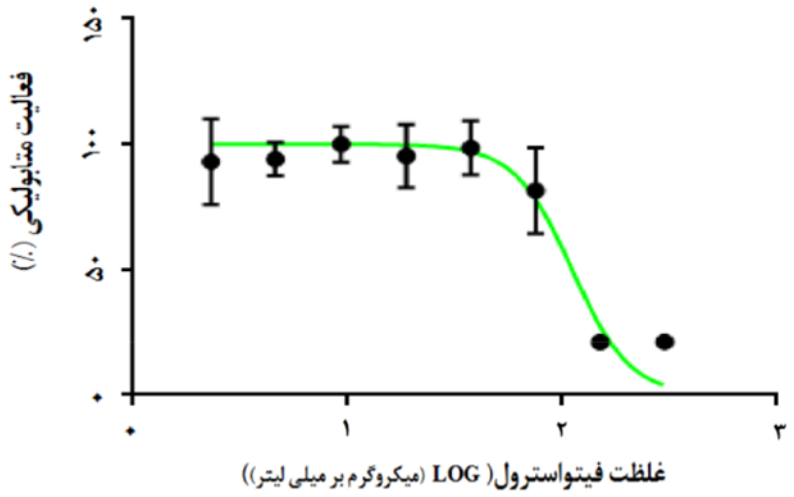
۷.۲. فعالیت سنتز کلاژن در فیبروبلاست

تست سنتز پروتئین پروکلاژن نوع ۱ براساس پروتکل تانایاما و همکارانش در سال ۱۹۹۲ با تغییراتی انجام شد. سوپرنتنت جمع‌آوری شده از تیمار ترکیبات استروئیدی با فیبروبلاست‌ها و همچنین نمونه‌های شاهد، که به مدت سه روز در دمای ۳۷ درجه با ۵درصد گاز دی‌اکسیدکربن انکوبه شده بودند، براساس دستورالعمل تاکارا، MK101 با سه بار تکرار اندازه-گیری شد. کنترل منفی به وسیله بافر و سوبسترا و بدون آنزیم در نظر گرفته شد.

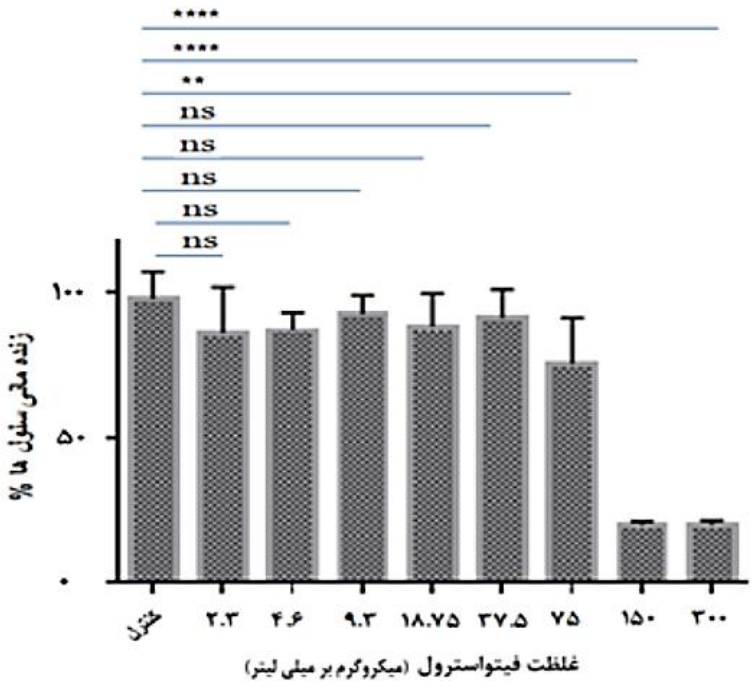
۳. نتایج

۱.۳. سازگاری نسجی استرول‌های استخراج شده

این بررسی با تست سمیت سلولی روی فیبروبلاست‌های پوست انسان مورد آزمایش قرار گرفت. غلظت‌های ۲/۳، ۴/۶، ۹/۳، ۱۸، ۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره استرولی جلبک گراسیلاریا سالیکورنیا مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که IC_{50} فیتواسترول‌های حاصل از جلبک گراسیلاریا سالیکورنیا در غلظت ۱۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر روی سلول‌های پوست انسان، می‌باشد (شکل ۲) و بنابراین در غلظت‌های پایین‌تر فاقد سمیت بوده و جهت مصارف انسانی در محصولات آرایشی-بهداشتی قابل ارائه می‌باشند. نتایج با نرم افزار گراف پد ۷/۳ آنالیز شدند. شکل ۳ مربوط به نتایج حاصل از درصد زنده‌مانی سلول‌های فیبروبلاست تیمار



شکل ۲ – نمودار غلظت- پاسخ رده سلولی فیبروبلاست پوست انسان به فیتواسترول‌های حاصل از جلبک *G. salicornia*. (تیمارها با ۵ بار تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند).



شکل ۳ – نمودار درصد زنده‌مانی سلول‌های رده سلولی فیبروبلاست پوست انسان در مقابل فیتواسترول‌های حاصل از جلبک *G. salicornia* (ns = بدون اختلاف معنی‌دار، $P< 0.01$ و $P<0.001$***).**

شده با فیتواسترول‌ها می‌باشد، همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، تا قبل از غلظت ۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری در درصد زنده‌مانی بین تیمارها و نمونه شاهد (فاقد فیتواسترول‌ها) وجود ندارد و این حاکی از غیرسمی بودن این ترکیبات در غلظت-های پایین می‌باشد.

۲.۳. تست پروکلاژن

مجموعه‌ی ترکیبات فیتواسترولی حاصل از عصاره استونی جلبک گراسیلاریا سالیکورنیا اختلاف معنی‌داری را در افزایش سنتز پروتئین نوع ۱ پروکلاژن نشان داد. در غلظت ۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر این ترکیبات، افزایش ۴۴/۶ درصدی سنتز کلاژن نسبت به نمونه شاهد (فاقد ترکیبات فیتواسترولی) مشاهده شد. نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس حاکی از اختلاف معنی‌دار تمامی غلظت‌ها نسبت به نمونه‌ی شاهد بود که این موید اثربخشی عصاره‌ها از غلظت ۱/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر سنتز پیش‌ساز پروکلاژن

پوست می‌باشد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

بررسی سنتز پروکلاژن نوع I برای ارزیابی مقدار این پروتئین در معرض عصاره‌های فیتواسترولی جلبک گراسیلاریا سالیکورنیا انجام شد. کلاژن‌ها به‌عنوان مولکول‌های پیشرو تولید می‌شوند، که پروکلاژن نامیده می‌شود. این مولکول‌ها حاوی توالی‌های پپتید اضافی در هر دو انتهای آمینو ترمینال و انتهای پایانه کربوکسی می‌باشند که پروپپتید نامیده می‌شود. این پروپپتیدها در طی ترشح آن از مولکول کلاژن سه گانه هیلیکس جدا شده و پس از آن کلاژن‌های سه حلقه‌ای پلیمر به فیبریل‌های کلاژن خارج سلولی پلیمریزاسیون می‌شوند. بنابراین مقدار پروپپتید آزاد استوکیومتریک مقدار مولکول‌های کلاژن سنتز شده را نشان می‌دهد (Kim *et al*., 2008). عصاره‌ی استرولی جلبک قرمز خلیج فارس، گسترش کلاژن نوع I را به‌صورت وابسته به دوز افزایش داد، که با توجه به تست سمیت سلولی انجام شده، در غلظت‌های بسیار پایین تا غلظت‌های زیر ۱۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هم قابل استفاده بوده و تاثیرات بالایی بر افزایش سنتز کلاژن در سلول‌های پوست دارا می‌باشد. بنابراین می‌توان این جلبک را به‌عنوان منبع طبیعی استرول، جهت ساخت مواد آرایشی و بهداشتی مورد بهره‌برداری قرار داد. Saeidnia و همکاران (۲۰۰۹) اثرات ضدباکتریایی عصاره‌ی اتیل استاتی این جلبک را مورد سنجش قرار دادند و نتایج نشان داد که این جلبک در مقابل باکتری *Staphylococcus aureus* توانایی مقابله داشته و دارای خواص ضدباکتریایی نیز می‌باشد. استرول‌های استخراج شده از گراسیلاریا سالیکورنیا که از سواحل شمالی بندرعباس جمع‌آوری گشته بود، شامل 22-dehydrocholesterol، cholesterol، oleic acid و stigmasterol است که نشان‌دهنده‌ی غنی بودن این جلبک از پلی‌ساکاریدهای کلسترول می‌باشد (Nasiri *et al*., 2011). در مطالعه‌ای که Tabarsa و همکاران (۲۰۱۲) انجام دادند، از میان گونه‌های جلبک دریایی، *G. salicornia* دارای بیشترین میزان اسید چرب اشباع نشده (۳۶/۱۶٪) بود که تقریباً سه برابر بیشتر از *Ulva lactuca* (۱۱/۵٪) محاسبه شد. اسید اولئیک در این کلاس فاکتور مهمی بود. آنالیز فیتوشیمیایی عصاره‌ی آبی به‌دست آمده از *G. salicornia* که اثرات ضدباکتری و ضدالتهاب را نیز از خود نشان داد، وجود استروئید، آلکالوئید، ساپونین، فنول، پروتئین، تانین، فلاوونوئید، اسید آمینه و ترپنوئیدها را مورد تایید قرار داد (Paramsivam *et al*., 2016). بررسی اثر ترکیبات فنولی دو گونه از جلبک گراسیلاریا که توسط Ghannadi و همکاران (۲۰۱۶) مورد مطالعه قرار گرفت، نشان‌دهنده‌ی وجود خواص سمیت سلولی بر رده‌ی سلول‌های سرطانی HT-29، HeLa و MCF-7 می‌باشد، همچنین در این تحقیق خواص آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات نیز به اثبات رسید. در گونه‌ی *G. corticata* ترکیبات تانین و در گونه‌ی *G. salicornia* تریترپن‌ها و استرول‌ها فراوانی بیشتری را دارا بودند. همچنین عصاره هیدروالکلی این جلبک خواص آنتی‌اکسیدانی داشته و نیز با رده‌ی سلولی سرطان پستان MCF7 مقابله می‌نماید.

ژلاتینازها، که شامل MMP-2 و MMP-9 می‌باشد، موجب تخریب پوستی می‌گردد. گزارش‌ها نشان داده است که پوست‌های آسیب دیده با آفتاب به صورت معنی‌داری افزایش سطح ژلاتیناز فعال (MMP-2 و MMP-9) را نسبت به پوست‌هایی که به صورت طبیعی دچار پیری شده‌اند، دارا می‌باشد (Chung *et al*., 2001). مطالعات آزمایشگاهی عصاره‌ی متانولی جلبک دریایی *Corallina pilulifera* نشان داد که این عصاره توانایی ممانعت از استرس اکسیداتیو ناشی از UV و همچنین بیان MMP-2 و MMP-9 در فیبروبلاست‌های پوست انسان را دارا است. این مطلب به روشنی پیشنهاد دهنده‌ی نقش ترکیبات جلبکی در مهارکنندگی MMP می‌باشد (Bomi *et al*., 2009). از آن‌جا که این توانایی می‌تواند اهمیت زیادی در از بین بردن و یا به تاخیر انداختن پیری پوست که از عوارض آن ایجاد چروک‌های پوستی است، داشته باشد، بنابراین استفاده از این عصاره‌ها در تولید کرم‌های ضدچروک ارگانیک می‌تواند گامی موثر در جایگزینی مواد طبیعی با منشاء دریایی با ترکیبات شیمیایی باشد.

در تحقیق بالینی که کاربرد فیتواسترول‌ها به همراه ویتامین E بر پوست انسان را مورد بررسی قرار داده بود، نتایج نشان‌دهنده‌ی اثر مهار کنندگی این مواد بر بیان ژن‌های COL1A1 و COL1A2 بوده

است، این ژن‌ها همچون MMP-2 و MMP-9 عمل نموده و در تخریب سلول‌های پوست اثرگذار می‌باشند.

۶. قدردانی

از مجتبی نادری (دانشگاه بین الملل قشم) و ملیکا ناظمی (پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان) که در طی انجام این تحقیق مساعدت نمودند، کمال تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید. همچنین از آلبرتو آکونیا و کلیه متخصصین و تکنیسین‌های مرکز تحقیقات دانشگاه ویگوی اسپانیا که بی‌دریغ در این مسیر همراهی کردند، سپاسگزارم.

References

Bodner, C.C., Hymowitz, T., 2002. Ethnobotany of Pueraria species. W.M. Keung, editor *Pueraria*: The genus *Pueraria*. *Taylor & Francis, New York*, 29-58.

Bomi, R., Zhong, Q., Kim, M.M., Nam, K.W., Kim, S.J., 2009. Anti- photoaging activity and inhibition of Matrix Metallo Proteinase (MMP) by marine red alga, *Corallina pilulifera* methanol extract. *Radiation Physics and Chemistry* 78(2), 98-105.

Chung, J.H., Seo, J.Y., Choi, H.R., Lee, M.K., Youn, C.S., Rhie, G., Cho, K.H., Kim, K.H., Park, K.C., Eun, H.C., 2001. Modulation of skin collagen metabolism in aged and photoaged human skin in vivo. *Journal of Investigation Dermatology* 117, 1218-1224.

Fisher, G.J., Choi, H.C., Bata, C. Z., Shao, Y., Datta, S., Wang, Z.Q., Kang, S., Voorhees, J.J., 2001. Ultraviolet irradiation increases matrix metalloproteinase- 8 protein in human skin in vivo. *Journal of Investingative Dermatology* 117, 219- 226.

Fisher GJ, Datta S, Wang Z. 2000. C-Jun-dependent inhibition of cutaneous procollagen transcription following ultraviolet irradiation is reversed by all-trans retinoic acid. *The Journal of Clinical Investigation* 106, 663-670.

Ghannadi, A., Shabani, L., Yegdaneh, A., 2016. Antioxidant and phytochemical analysis of *Gracilaria* species from Persian Gulf. *Advanced Biomedical Research* 5, 139- 139 .

Kim, Y.H., Chung, C.B., Kim, J.G., Ko, K.I., Park, S.H., Kim, J.H., Eom, S.Y., Kim, Y.S., Hwang, Y.I., Kim, K.H., 2008. Anti-wrinkle activity of ziyuglycoside I isolated from a *Sanguisorba officinalis* root extract and its application as a cosmeceutical ingredient. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 1347-6947.

Kohen, R., Nyska, A., 2002. Invited review: Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicology Pathology* 30, 620-650.

Lee, S., Lee, Y.S., Jung, S.H., Kang, S.S., Shin, K.H., 2003. Anti-oxidant activities of fucosterol from the marine algae *Pelvetia siliquosa*. *Archives of Pharmacal Research* 26, 719-722.

Tabarsa, M., Masoud, R., Ramezanpour, Z., Waaland, J.R., 2012. Chemical compositions of the marine algae *Gracilaria salicornia* (Rhodophyta) and *Ulva lactuca* (Chlorophyta) as a potential food source. *Journal of Science Food Agriculture* 92, 2500-2506.

Nasiri, M., Saeidnia, S., Mashinchian-Moradi, A., Gohari, A.R., 2011. Sterols from the red algae, *Gracilaria salicornia* and *Hypnea flagelliformis*, from Persian Gulf. *Pharmacognocy Magazine* 7, 97-100 .

Poppel, G.V., Goldbohm, R.A., 1995. Epidemiologic evidence for betacaroten and cancer prevention. *American Journal of Clinical Nutrition* 62, 1393-1402.

Raja, R., Hemaiswarya, S., Rengasamy, R., 2007. Exploitation of *Dunaliella* for β-carotene production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(3), 517- 523.

Paramsivam, R. Y., Susmitha, S., Shalini, S., Vijayaraghavan Ramasamy. 2016. Study on Metabolic compounds of *Gracilaria salicornia* against anti-inflammatory activity. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 5(4), 202-211 .

Rittié, L., Fisher, G.J., 2002. UV-light-induced signal cascades and skin aging. *Ageing Research Review* 1, 705-720.

Saeidnia, S., Gohari, A.R., Shahverdi, A.R., Permeh, P., Nasiri, M., Mollazadeh, K., Farahani, F., 2009. Biological activity of two red algae, *Gracilaria salicornia* and *Hypnea flagelliformis* from Persian Gulf. *Pharmacognocy Research* 1, 428-430.

Tapiero, H., Townsend, D.M., Tew, K.D., 2003. Phytosterols in the prevention of human pathologies. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 57, 321- 325.

Verschooten, L., Claerhout, S., Van Laethem, A., 2006. New strategies of photoprotection. *Photochemistry and Photobiology* 82, 1016-1023.