"Short Comunication" **DOI: 10.30495/JFH.2022.1955841.1350**

The cytotoxic effect of *Spirulina* extract on gastric and prostate cancer cell lines

Khodaverdipour, F.[1], Sharifzadeh, A.[2*]

1. M.Sc. Graduate of Microbiology, Faculty of basic sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
2. Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
*Corresponding Author Email: sharifzadeh@iaushk.ac.ir
(Received: 2022/4/3 Accepted: 2022/6/13)

Abstract

The AGS cell line contains gastric cancer cells, which are among the most common cancers in the world. The DU145 cell line also includes prostate cancer cells, the second leading cause of death in men after lung cancer. This study was designed to assess the cytotoxicity of spirulina extract on AGS and DU145 cell lines. In this in vitro trial, cell lines AGS and DU145 were used. Gastric and prostate cancer cell lines were prepared and cultured from the Iranian Center for Biological and Genetic Resources. The cells were divided into treatment and control groups. The effect of spirulina extract on the treated group was determined using the MTT method. According to MTT results, *Spirulina* extract has anti-cancer activity and more than 50% reduction in cell density against AGS and DU145 cell lines; While it did not show any significant effect on healthy cells ($P< 0.05$). The results of this study indicate that *Spirulina* extract has a good potential to control cancer cells.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Cellular toxicity, *Spirulina*, Gastric cancer, prostate cancer

«مقاله کوتاه» DOI: 10.30495/JFH.2022.1955841.1350

مطالعه سمیت سلولی عصاره *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر سلول‌های سرطانی معده و پروستات

فاطمه خداوردی‌پور[۱]، علی شریف‌زاده[۲*]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲. دانشیار گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: Sharifzadeh@iaushk.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱/۱۴ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۳/۲۳)

چکیده

رده سلولی AGS شامل سلول‌های سرطانی معده، یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در دنیا است. رده سلولی DU145 نیز شامل سلول‌های سرطانی پروستات هستند که پس از سرطان ریه، دومین عامل مرگ و میر در مردان است. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی فعالیت سمیت سلولی عصاره *اسپیرولینا* بر رده‌های سلولی AGS و DU145 بود. در این مطالعه آزمایشگاهی، از رده‌های سلولی AGS و DU145 استفاده گردید. در این مطالعه رده‌های سلولی سرطان معده و پروستات از مرکز ذخایر زیستی و ژنتیکی ایران تهیه و کشت داده شد. سلول‌ها به دو گروه تیمار و شاهد تقسیم شدند. تأثیر عصاره *اسپیرولینا* روی گروه تیمار با استفاده از روشMTT سنجیده شد. براساس نتایج MTT، عصاره *اسپیرولینا* دارای فعالیت ضدسرطانی و بیش از ۵۰ درصد کاهش تراکم سلولی علیه رده سلولی AGS و DU145 است؛ در حالی‌که روی سلول سالم اثر خاصی نشان نداد ($P<0/05$). نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از آن است که عصاره *اسپیرولینا* از پتانسیل مناسبی برای کنترل سلول‌های سرطانی برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: سمیت سلولی، *اسپیرولینا*، سرطان معده، سرطان پروستات

مقدمه

سرطان از جمله مشکلات جدی سلامت جوامع امروزی است که تلاش‌های بسیار گسترده‌ای برای مقابله با آن در حال انجام است. هر ساله در ایران، بیش از پنجاه هزار مورد جدید سرطان گزارش می‌شود (Baghestani *et al.*, 2018). سرطان معده در دنیا به‌عنوان چهارمین سرطان شایع است (Jemal *et al.*, 2011). این نوع سرطان، یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در سرتاسر جهان است و جزو بیماری‌های چندعاملی (عفونت، محیط، ژنتیک و ...) دسته‌بندی می‌شود. با توجه به این‌که علایم سرطان معده بسیار دیر ظاهر می‌گردد، این نوع سرطان هنوز به‌عنوان یک بیماری مرگ‌بار شناخته می‌شود (Zabal *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 1998). سرطان پروستات نیز دومین علت مرگ و میر مردان است که معمولاً تا مراحل پیشرفته ممکن است بدون علامت باشد و خود را با متاستازهای دوردست نشان دهد (Kasper., 2015). به‌خصوص نوع غیروابسته به آندروژن سرطان پروستات، نسبت به آپوپتوز القا شده در نتیجه دست‌کاری هورمونی مقاوم بوده و باعث عدم موفقیت روش‌های درمانی مرسوم می‌گردد (Miller *et al.*, 2000). در بسیاری از موارد سلول‌های سرطانی در نهایت می‌توانند با راهکارهای درمانی ارایه شده مقابله کرده و حتی گاهی با بروز مقاومت به شیمی‌درمانی از درمان‌های به‌کار رفته برای رشد سریع‌تر تومور بهره ببرند. بنابراین به‌ویژه در دو دهه اخیر، دانشمندان تلاش کرده‌اند برای مبارزه موفقیت‌آمیز با سرطان، راهکارهای خود را نیز به همین اندازه هوشمندانه انتخاب کنند. از جمله این راهکارها برای این دفاع هوشمندانه، استفاده از ترکیبات مکمل است (Noori *et al.*, 2018). از جمله ترکیبات مکمل، گیاهان دارویی یا پروبیوتیک‌هایی است کـه هزینه درمان و عوارض جانبی کمتری دارند و می‌توانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشـته باشند. مطالعات مختلف نشان داده است رادیکال‌های آزاد می‌توانند منجر به بیماری‌های مخربی چون سرطان، دژنراسیون استخوان و پیری سلول شوند. ترکیبات آنتی‌اکسیدان شامل کارتنوئیدها، فلاونوئیدها، ترکیب‌های حاوی گلوتاتیون و نظایر آن است (Ge *et al.*, 2019).

اسپیرولینا سیانوباکتری است که دارای میزان زیادی ویتامین و مواد معدنی است و به‌همین دلیل سازمان بهداشت جهانی *اسپیرولینا* را ماده مغذی فوق‌العاده (Superfood) نامیده است (Chacon *et al.*, 2010). سلول‌های آن غنی از پروتئین با محتوای پروتئین تا ۷۰ درصد وزن خشک است (Wallace, 2000). پروتئین *اسپیرولینا* ٦٧ برابر بیشتر از سویا، کلسیم تا ۱۸ برابر بیشتر از شیر، آهن ۵۱ برابر بیشتر از اسفناج و بتاکاروتن تا ۳۱ برابر بیشتر از هویج است (Capelli *et al.*, 2010). همچنین *اسپیرولینا* یک منبع طبیعی غنی از ویتامین A، B_1، B_2، B_{12} و اسیدهای چرب ضروری شامل اسیدهای چرب غیراشباع مانند اسیدهای چرب امگا ۳ و امگا ٦، رنگ‌دانه‌های مفید مانند گزانتوفیل و کاروتنوییدها، مس و آهن است (Bobescu *et al.*, 2020). این سیانوباکترها علاوه بر این که منبع غنی از مواد غذایی با ارزش هستند، ترکیب آنتی‌اکسیدان قوی نیز محسوب می‌شوند و علت آن وجـود ترکیب‌های فنولی و فیکوبیلی پروتیینی است (Rzymski *et al.*, 2015). فیکوبیلی پروتئین موجود در *اسپیرولینا* به‌واسطه خاصیت جذب رادیکال‌های آزاد می‌تواند به‌عنوان داروی ضدسرطان و ضدتومور مورد استفاده قرار گیرد. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات

سمیت سلولی عصاره سیانوباکتر *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر روی رده سلولی سرطان معده و پروستات بود.

مواد و روش کار

- تهیه عصاره *اسپیرولینا*

باکتری به حالت پودر سبزرنگ تجاری خریداری شد. پنج گرم پودر *اسپیرولینا* درون فالکون ریخته شد و ۲۵ میلی‌لیتر متانول به آن اضافه و با ورتکس به‌مدت ۷ دقیقه هم زده شد. در سانتریفوژ به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۱۵ درجه سلسیوس سانتریفوژ گردید به رسوب موجود در فالکون ۲۵ میلی‌لیتر متانول تازه اضافه گردید. سپس همان شرایط ذکر شده دوباره سانتریفوژ شد. لایه‌رویی جدید به عصاره استخراج شده مرحله قبلی افزوده شد. این عصاره‌ها با کاغذ صافی فیلترشده و با شرایط ذکر شده دوباره سانتریفوژ شد. سپس محلول به‌دست آمده با متانول به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. عصاره متانولی تا زمان آنالیز در فریزر با دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگه‌داری شد.

- کشت رده سلولی AGS و DU145

رده سلولی AGS (Adenocarcinoma Gastric Stomatch) و DU145 (سرطان پروستات) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه و پس از افزودن ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (Foetal Bovine Serum)، آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰۰ واحد در هر میلی‌لیتر) توام با استرپتومایسین (۱۰ میکروگرم در هر میلی‌لیتر) و ۲ درصد گلوتامین به محیط کشت RPMI-1640 (Gibco)، در فلاسک‌های کشت سلولی کشت داده شد. فلاسک‌ها در انکوباتور دارای ۹۵ درصد رطوبت و ۵ درصد کربن دی اکسید در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفت و هر ۳ روز یک‌بار محیط کشت تعویض گردید (Haghshenas *et al*., 2015). تصاویر هر دو رده سلولی سرطان معده و پروستات به ترتیب در شکل های (۱) و (۲) آمده است.

- سنجش سمیت سلولی به‌روش MTT

در ابتدا محیط کشت سطح سلول‌ها برداشته شد و سپس برای جدا شدن سلول‌ها از کف فلاسک، یک میلی‌لیتر تریپسین و پس از حدود ۲ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر محیط کشت اضافه و این سوسپانسیون سلولی در 1200 rpm سانتریفوژ گردید. سپس مایع بالای رسوب جدا شد و به رسوب ۱ میلی‌لیتر محیط کشت اضافه گردید. در مرحله بعد سلول‌های جدا شده شمارش گردید. برای این کار ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی و ۱۰ میکرولیتر تریپان بلو روی لام نئوبار ریخته و تعداد سلول‌های زنده شمارش گردیدند. سپس ۱۰۰۰۰ سلول به چاهک‌های حاوی ۱۸۰ میکرولیتر محیط کشت و ۲۰ میکرولیتر عصاره *اسپیرولینا* (از غلظت‌های مختلف) اضافه شد. گروه دیگری از سلول‌ها نیز به‌عنوان شاهد، بدون افزودن عصاره و فقط با افزودن فسفات بافر سالین به‌جای عصاره و به‌عنوان شاهد مورد آزمایش قرار گرفت و هر آزمایش ۸ بار تکرارگردید. شکل شماره (۳) نمایی از سلول های لایز شده در اثر *اسپیرولینا* را نشان می‌دهد . سپس ۲۰ میکرولیتر محلول MTT (Dimethyl thiazole - 2 and 5 diphenyltetrazolium bromide) به هر چاهک اضافه و به‌مدت ٤ ساعت در انکوباتور حاوی دی‌اکسیدکربن در تاریکی قرار داده شد. در این مدت، آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری سلول‌های زنده، رنگ زرد MTT

را بـه کریســـتال‌های فورمازان بنفش رنگ تبدیل کرد. ســپس محیط رویی را خارج نموده و پس از افزودن ۵۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک، ۲۰ دقیقه در انکوباتور قرار گرفـت. در این مدت کریســـتال‌های فورمازان حل گردیـد. در مرحلـه آخر جـذب نوری با طول موج‌های ٤٩٢ و ٦٣٠ نـانومتر بـا ELISA Reader (BIOTEK, USA) قرائت شـد. در نهایت درصد زنده بودن سلول‌ها بـا تقســـیم جذب نوری ســـلول‌های تیمار نســـبت به سـلول‌های شـاهد ضـرب در ۱۰۰ محاسبه گردید. نتایج حاصـــل از آن با نســـخه ۲۲ نرم‌افزار آماری SPSS و با اســـتفاده از آزمون t مســـتقل ($p< ۰/۰۵$) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

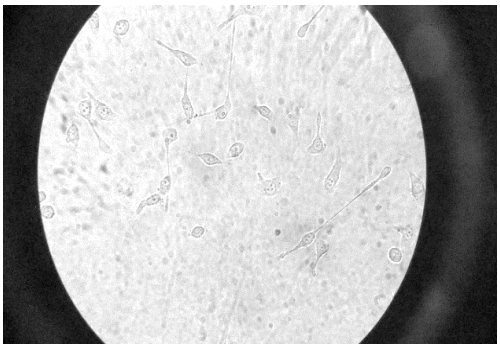
یافته‌ها

- تأثیر سمیت سلولی عصاره *اسپیرولینا* بر رده سلول‌های سرطانی AGS و DU145

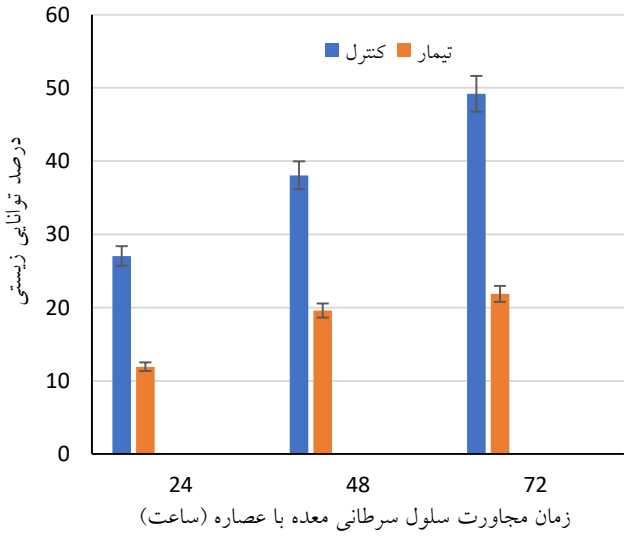
نتایج حاصل از سمیت سلولی نشان داد تعداد سلول‌های AGS تحت تیمار با عصاره *اسپیرولینا* در هر سه زمان گرمخانه‌گذاری ٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است. آنالیز آماری با آزمون t، مؤید تأثیر معنی‌داری ($p< ۰/۰۵$) این عصاره بر سلول‌های سرطانی معده (AGS) و پروستات (DU145) نسبت به گروه شاهد بود. هم‌چنین عصاره باکتری سمیت سلولی وابسته به غلظت نیز بر روی سلول‌های سرطانی معده و پروستات داشت به طوری‌که با افزایش غلظت عصاره (یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، این فعالیت بیشتر گردید. در نهایت مقدار IC50 (غلظتی از نمونه که موجب ۵۰ درصد مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌شود) محاسبه و این نتایج در نمودار (۱) در مورد رده سلولی سرطان معده و (۲) در مورد رده سلولی سرطان پروستات ترسیم گردید. در هر دو نمودار با قرار دادن متغیر زنده‌مانی در محور عمودی و متغیر زمان مجاورت با عصاره در محور افقی به تفاوت درصد زنده مانی سلول های مجاور شده با تیمار *اسپیرولینا* در مقایسه با گروه شاهد پرداخته شده است.

شکل (۱)- سلول‌های طبیعی AGS قبل از تیمار با عصاره *اسپیرولینا*

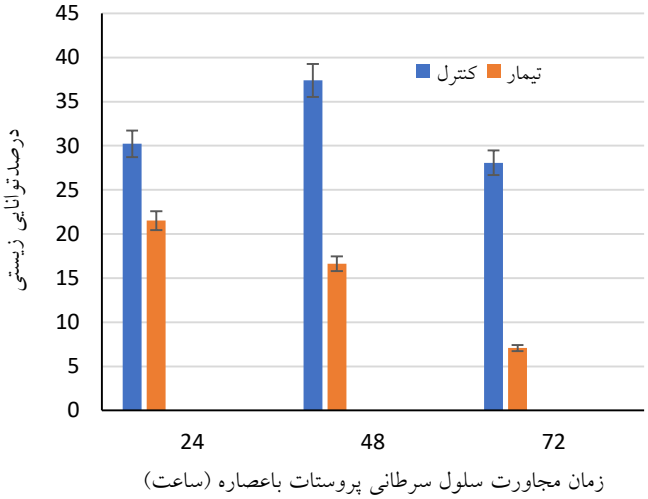
شکل (۲)- سلول‌های طبیعی DU145 قبل از تیمار با عصاره *اسپیرولینا*



شکل (۳)- اثر سمیت سلولی عصاره *اسپیرولینا* در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر



نمودار (۱)- مقایسه اثر سایتوتوکسیک عصاره *اسپیرولینا* بر رده سلول سرطانی AGS



نمودار (۲)- مقایسه اثر سایتوتوکسیک عصاره *اسپیرولینا* بر رده سلول سرطانی DU145

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه به‌رغم پیشرفت‌های زیاد در درمان سرطان، نیاز به کشف و معرفی داروهای جدید و جایگزین یا هم‌افزا به‌دلیل ظهور رو به تزاید مقاومت سلول‌های توموری پستانداران به شیمی‌درمانی و آثار جانبی زیاد آن کماکان وجود دارد (Harlev *et al.*, 2012).

در مطالعه حاضر اثرات سمیت سلولی عصاره سلولی سیانوباکتر *اسپیرولینا* پلاتنسیس روی رده سلولی سرطان معده و پروستات مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان داد که اثرات سمیت سلولی عصاره سلول باکتری در رده سلولی AGS و DU145 وابسته به زمان وغلظت است به‌طوری که با افزایش زمان گرمخانه‌گذاری، اثرات سمیت سلولی بیشتر می‌گردید. بیشترین میزان سمیت سلولی در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. البته نتایج سمیت سلولی عصاره باکتری بر روی رده DU145 نشان داد که میزان سمیت آن بر روی این رده نسبت به رده سلولی AGS کمتر است. *اسپیرولینا* یکی از میکروارگانیسم‌هایی است که غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است. مطالعه‌های مختلف به نقش ضدسرطانی *اسپیرولینا* اشاره کرده‌اند و طی مطالعه‌های متفاوت مشخص شده است که نقش ضدسرطانی *اسپیرولینا* مربوط به اثر آن بر میتوکندری سلول‌های سرطانی و اثر بر مسیرهای پیام‌رسانی می‌شود (Li *et al.*, 2015). *اسپیرولینا* سرشار از گامالینولئیک اسید نیز می‌باشد. گاما لینولئیک اسید، یک اسید چرب اشباع نشده غیرضروری مغذی است که از بین بردن انتخابی سلول‌های توموری بدون آسیب به سلول‌های سالم از جمله آثار آن است (Gantar *et al.*, 2008, Tie *et al.*, 2005). کاروتنوییدها نیز از جمله آنتی‌اکسیدان‌های با منشاء طبیعی شناخته شده هستند که فعالیت ضدتوموری را نشان می‌دهند. به تازگی، مشخص شده است که مصرف کاروتنوییدها به‌همراه ۵- فلوروراسیل منجر به اثرهای ضدسرطانی بهتری نسبت به زمانی که ۵- فلوروراسیل به تنهایی مورد استفاده قرار می‌گرفت، شدند. این اثر بخشی می‌تواند به کاهش سطح بافتی رادیکال آزاد ایجاد شده توسط ۵- فلوروراسیل مربوط باشد؛ بنابراین، این سیانوباکتر ممکن است به‌عنوان یک داروی طبیعی بالقوه برای مهار و درمان بیماری‌های مرتبط با گونه‌های

فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) مطرح شوند. این کاروتنوییدها شامل انواع مختلفی مانند آستاگزانتین هستند که دارای یک قابلیت ضدتوموری بالقوه‌اند. آستاگزانتین به شکل وابسته به دوز از تکثیر سلولی دو رده سلولی سرطان KATO-III و SUN-1 جلوگیری می‌کند. آستاگزانتین یک آنتی‌اکسیدان کارآمد است که قادر است از سمیت ژنی و سمیت سلولی ایجاد شده توسط گونه‌های فعال مشتق از اکسیژن جلوگیری کند و آنزیم‌های کبدی مؤثر در سم‌زدایی ترکیب‌های سرطان‌زا و بیگانه را فعال کند (Fleischauer *et al.*, 2003). در تحقیق بر روی اثرات سمیت سلولی برخی از پروبیوتیک‌ها از جمله *لاکتوکوکوس لاکتیس* بر برخی رده‌های سلولی سرطانی نیز مشخص شده است که ترشحات این پروبیوتیک باعث کاهش تکثیر سلولی در رده برخی از رده‌های سلول‌های سرطانی از جمله سرطان معده و پستان می‌شود (Haghshenas *et al.*, 2014). هم‌چنین در دو تحقیق مجزا بر روی اثرات سمیت سلولی *انتروکوکوس فکالیس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر برخی رده‌های سلولی سرطانی دیگر نیز از جمله Hella, AGS,MCF-7 و HT-29 نتایج مشابهی به‌دست آمده است (Haghshenas *et al.*, 2015, Nami *et al.*, 2014). نتایج تحقیق حاضر با نتایج حاصل از تحقیق‌های مشابه هم‌خوان است به‌طوری که در بررسی اثر *اسپیرولینا پلاتنسیس* به‌عنوان مکمل غذایی در مبتلایان به سرطان کبد، نشان داده شده است که استفاده از این مکمل شکل‌گیری تومور را به‌طور قابل‌توجهی از ۸۰ به ۲۰ درصد کاهش می‌دهد (Ismail *et al.*, 2009). در مطالعه روی موش‌های آزمایشگاهی مبتلا به ملانوما نیز نشان داده شده است که در موش‌های تیمار شده با *اسپیرولینا* حجم توده توموری پس از مدتی نسبت به موش‌های کنترل کاهش معناداری داشته است. یکی از دلایل ویژگی‌های آنتی‌توموری *اسپیرولینا* القا افزایش سلول‌های کشنده طبیعی NK cell در بدن موش‌ها می‌باشد (Akao *et al.*, 2014). هم‌چنین در تحقیق بر روی اثرات سمیت سلولی برخی از سیانوباکترها بر برخی رده‌های سلولی سرطانی مشخص شده است که عصاره *اسپیرولینا* باعث کاهش پرولیفراسیون سلولی در رده سلولی تخمدان می‌شود (Pan *et al.*, 2015). ترکیب‌های موجود در این سیانوباکتر باعث کاهش تکثیر سلول‌های سرطانی پانکراس نیز می‌شود (Koníckova *et al.*, 2014). با توجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مشاهده شد که عصاره‌ای که ۷۲ ساعت روی رده سلولی اثر گذاشته بود بیشترین اثر سمیت سلولی را داشته که می‌تواند به‌دلیل مقدار بیشتر متابولیت‌های تولید شده در عصاره باشد.

با توجه به اثرات سایتوتوکسیک عصاره سلولی *اسپیرولینا* پلاتنسیس بر روی رده سلولی AGS و DU145 پیشنهاد می‌گردد که از این سیانوباکتر به‌عنوان مکمل غذایی و دارویی در پیش‌گیری و درمان سرطان معده و پروستات استفاده گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

سپاسگزاری

نویسندگان از سرکار خانم عالی، در مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که در

به ثمر رساندن این تحقیق یاری نمودند، کمال تقدیر و تشکر را دارند.

منابع

- Akao, Y., Ebihara, T., Masuda, H., Saeki, Y., Akazawa, T., Hazeki, K. *et al.* (2009). Enhancement of antitumor natural killer cell activation by orally administered *Spirulina* extract in mice. Cancer Science, 100(8): 1494-1501.
- Baghestani, A.R., Hajizadeh, E. and Fatemi, S.R. (2010). Application of Bayes method in determining of the risk factors on the survival rate of gastric cancer patients. Koomesh, 11(2): 129-132. [In Persian]
- Bobescu, E., Balan, A., Moga, M.A., Teodorescu, A., Mitrica, M. and Dima, L. (2020). Are there any beneficial effects of *Spirulina* supplementation for metabolic syndrome components in postmenopausal women? Marine Drugs,18(2):1-20.
- Capelli, B. and Cysewski, G.R. (2010). Potential health benefits of *Spirulina* microalgae. Nutrafoods, 9(2): 19-26.
- Chacón-Lee, T. and González-Mariño, G. (2010). Microalgae for "healthy" foods—possibilities and challenges. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 9(6): 655-675.
- Fleischauer, A.T., Simonsen, N. and Arab, L. (2003) Antioxidant supplements and risk of breast cancer recurrence and breast cancer-related mortality among postmenopausal women. Nutrition and Cancer, 46(1): 15-22.
- Gantar, M. and Svirčev, Z. (2008). Microalgae and cyanobacteria: food for thought 1. Journal of Phycology, 44(2): 260-268.
- Ge, Y., Kang, Y., Dong, L., Liu, L. and Yuan, G. (2019). The efficacy of dietary *Spirulina* as an adjunct to chemotherapy to improve immune function and reduce myelosuppression in patients with malignant tumors. Translational Cancer Research, 8(4): 1065-1073.
- Hghshenas, B., Nami, Y., Abdullah, N., Radiah, D., Rosli, R. and Khosroshahi, A.Y. (2015). Anticancer impacts of potentially probiotic acetic acid bacteria isolated from traditional dairy microbiota. Food Science and Technology, 60: 690-697.
- Hghshenas, B., Abdullah, N., Nami, Y., Radiah, D., Rosli, R. and Khosroshahi, A.Y. (2014). Different effects of two newly-isolated probiotic *Lactobacillus plantarum* 15HN and Lactococcus lactis subsp. Lactis 44Lac strains from traditional dairy products on cancer cell lines. Anaerobe, 30: 51-59.
- Harlev, E., Nevo, E., Lansky, E.P., Lansky, S. and Bishayee, A. (2012). Anticancer attributes of desert plants: a review. Anti-Cancer Drugs, 23(3): 255-271.
- Huang, J.Q., Sridhar, S., Chen, Y. and Hunt, R.H. (1998). Meta-analysis of the relationship between Helicobacter pylori seropositivity and gastric cancer. Gastroenterology ,114 (6): 1169-1167.
- Ismail, M.F., Ali, D.A., Fernando, A., Abdraboh, M.E.,Gaur, R.L., Ibrahim, W.M. *et al*. (2009). Chemoprevention of rat liver toxicity and carcinogenesis by *Spirulina*. International Journal of Biological Science, 5(4): 377-387.
- Jemal, A., Bray, F., Center, M.M., Ferlay, J., Ward, E. and Forman, D. (2011). Global cancer statistics. Cancer Journal for Clinicians, 61(2): 69-90.
- Kasper, D., Fauci, A., Hauser, S., Longo, D., Jameson, J. and Loscalzo, J. (2015). Harrison's principles of internal medicine. 19th ed. USA. 579-583.
- Koníckova, R., Vankova, K., Vaníkova, J., Vanova, K., Muchova, L., Subhanova, I. *et al*. (2014). Anti-cancer effects of blue-green alga Spirulina platensis, a natural source of bilirubin-like tetrapyrrolic compounds. Annals of Hepatology, 13(2): 273-283.

- Li, X.L., Wong, Y.S., Xu, G. and Chan, J.C. (2015). Selenium-enriched Spirulina protects INS-1E pancreatic beta cells from human islet amyloid polypeptide-induced apoptosis through suppression of ROS-mediated mitochondrial dysfunction and PI3/AKT pathway. European Journal of Nutrition, 54(4): 509-522.
- Miller, G.J. (2000). Prostate cancer among the Chinese: pathologic, epidemiologic, and nutritional considerations. Advanced therapy of prostate disease. London, BC Decker.18-27.
- Nami, Y., Abdullah, N., Hghshenas, B., Radiah, D., Rosli, R. and Khosroshahi, A.Y. (2014). A newly isolated probiotic *Enterococcus faecalis* strain from vagina microbiota enhances apoptosis of human cancer cells. Journal of Applied Microbiology, 117(2): 498-508.
- Nami, Y., Abdullah, N., Hghshenas, B., Radiah, D., Rosli, R. and Khosroshahi, A.Y. (2014). Probiotic potential and biotherapeutic effects of newly isolated vaginal *Lactobacillus acidophilus* 36YL strain on cancer cells. Anaerobe, 28: 29-36.
- Noori, M. and Kashani, B. (2018). Targeted cancer therapy. Tehran University Medical Journal,76(4): 231-240.
- Pan, R., Lu, R., Zhang, Y., Zhu, M., Zhu, W., Yang, R. *et al*. (2015). Spirulina phycocyanin induces differential protein expression and apoptosis in SKOV-3 cells. International Journal of Biological Macromolecules, 81: 951-959.
- Rzymski, P., Niedzielski, P., Kaczmarek, N., Jurczak, T. and Klimaszyk, P. (2015). The multidisciplinary approach to safety and toxicity assessment of microalgae-based food supplements following clinical cases of poisoning. Harmful Algae, 46: 34-42.
- Tai, M.H., Chang, C.C., Olson, L.K. and Trosko, J.E. (2005). Oct4 expression in adult human stem cells: evidence in support of the stem cell theory of carcinogenesis. Carcinogenesis, 26(2): 495-502.
- Wallace, J. (2000). Increasing agricultural water use efficiency to meet future food production. Agriculture, Ecosystems & Environment, 82: 105-119.
- Zabaleta, J. (2012). Multifactorial etiology of gastric cancer. Methods in Molecular Biology, 863: 411-35.