زیست‌شناسی جانوری، سال شانزدهم، شماره اول، پاییز ۱۴۰۲، صفحات ۲۶۵-۲۵۷

مقاله پژوهشی

بررسی تاثیرات آپوپتوزی عصاره‌ی سیتوپلاسمی *ساکارومایسس سرویزیه* بر رده سلولی MCF-7

احمدرضا غلامیان ورنامخواستی[۱]، محمد حیدرپور[۲]، هادی محب علیان[۳*]

۱- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

۲- گروه آموزشی علوم درمانگاهی ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

۳- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

*مسئول مکاتبات: mohebalian@um.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۷

DOI: 10.22034/ascij.2023.1983579.1481

چکیده

اگر چه مطالعات بسیاری در مورد اثرات ضد سرطانی عصاره های گیاهی انجام شده اما مطالعات در خصوص اثرات ضدسرطانی عصاره های قارچی بسیار محدود است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات آپوپتوزی عصاره‌ی سیتوپلاسمی قارچ *ساکارومایسس سرویزیه* (*Saccharomyces cerevisiae*) بر رده سلولی MCF-7 می‌باشد. طی این تحقیق تجربی آزمایشگاهی سلول‌های سرطانی سینه رده MCF-7 با غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم/ میلی لیتر عصاره‌ی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. زنده مانی سلول‌ها با استفاده از سنجش MTT و آپوپتوز سلولی توسط فلوسایتومتری بررسی شد. داده‌ها با استفاده آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج حاصل از تست MTT بیانگر آن بود که با افزایش مدت تیمار و غلظت عصاره درصد زنده‌مانی سلول‌ها کاهش پیدا کرد به طوری که در غلظت ۲۰۰۰ و زمان ۷۲ ساعت کمترین درصد زنده‌مانی سلول‌ها مشاهده شد. نتایج فلوسایتومتری تایید کننده مرگ سلولی ناشی از آپوپتوز در سلول‌های سرطانی بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشانگر اثرات سیتوکسیک عصاره‌ی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* بر سلول‌های سرطانی پستان بود. همچنین بررسی فلوسایتومتری بیانگر آن بود که اثرات سیتوتوکسیک حاصل از القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی بود.

کلمات کلیدی: *ساکارومایسس سرویزیه*، سرطان سینه، سنجش MTT، فلوسایتومتری.

مقدمه

سرطان امروزه دومین عامل مرگ میر در جهان می-باشد که پس از بیماری‌های قلبی و عروقی سالیانه جان میلیون‌ها تن را می‌گیرد. به طورکلی شایع‌ترین سرطان‌ها در زنان ایرانی به ترتیب شامل سرطان سینه، روده بزرگ، معده و تیروئید است و شایع‌ترین آنها در مردان به ترتیب شامل سرطان معده، پروستات، روده بزرگ و مثانه می‌باشد. مرگبارترین سرطان‌ها در هر دو جنس به ترتیب سرطان‌های معده، ریه، خون، مری، روده‌ی بزرگ، مغز و سیستم اعصاب مرکزی است (۳، ۵). یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها سرطان سینه است که شایع ترین بدخیمی غیر جلدی و دومین نوع سرطان کشنده در بین زنان در ایالات متحده است. این بیماری در حال حاضر بیش از یک زن از هر ده زن را در سراسر جهان تحت تاثیر قرار می‌دهد. درصد

تشخیص سرطان سینه برای زنان در طول زندگی به طور قابل توجهی از ۱ در ۱۱ زن در سال ۱۹۷۵ به ۱ در ۸ زن افزایش یافته است. موسسه ملی سرطان شانس ابتلا زنان به آن عارضه را متناسب با افزایش سن می‌داند. خوشبختانه، میزان مرگ و میر ناشی از سرطان سینه در سال‌های اخیر به دلیل افزایش تاکید بر تشخیص زودهنگام و درمان های موثرتر در جمعیت سفید پوست کاهش یافته است اما با این وجود شیوع کلی سرطان در میان جمعیت آفریقایی آمریکایی و اسپانیایی تبار به رشد خود ادامه داده است. یکی از رده‌های سلولی رایج این سرطان رده سلولی است (۲۰). درمان‌های مختلفی در طول سال‌های متمادی برای سرطان‌ها ارایه شده که اکثر آنها از جمله درمان‌های شیمیایی با عوارض مختلفی بیمار را روبرو می‌کند. با این حال مطالعات مختلف نشان داده است که عصاره های مختلف گیاهان و مخمر ها دارای تاثیرات مفیدی بر سلامتی از جمله نقش در کنترل و مهار متاستاز را در سرطان‌ها مختلف بر عهده دارند و عوارض داروهای شیمیایی را هم ندارند. یکی از عصاره‌های رایج مورد استفاده عصاره-های استخراج شده از مخمرها است. یکی از مخمرهای بسیار رایج مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* است. نام علمی *ساکارومایسس سرویزیه* از ساکار به معنی قند و مایسس به معنی قارچ تشکیل شده است. *ساکارومایسس سرویزیه* یکی از اعضای گروه مخمرها واز میکروارگانیسم تک سلولی است که توسط جوانه-زنی تکثیر می‌یابد. این مخمر در سلسله قارچ‌ها، شاخه آسکومایکوتا، راسته ساکارومایستال‌ها، جنس ساکارومایسس وگونه سرویزیه قرار دارد.گونه‌های مختلف ساکارومایستال‌ها در مواد مترشحه شیرین گیاهان مثل صمغ‌های لزج در زخم گیاهان و شهد گل‌ها، سطح میوه‌های سالم و پوسیده، فرآورده‌های تولید شده از میوه‌جات که غلظت قند بالایی دارند، حضور دارند (۱۱). مطالعات مختلفی تاثیر مواد مختلف از جمله آلیسین و متیل سولفونیل و کورکومین بر رده سلولی MCF-7 مورد مطالعه قرار دادند که نتایج حاصل از آنها ناشی از کنترل متاستاز بعد از اثر ماده موثره مورد نظر بود (۲، ۱۷، ۱۹). در تعدادی از مطالعات نیز به بررسی عصاره های استخراج شده از گیاهان همچون زردچوبه و درمنه دشتی و زرفا بر رده سلولی MCF-7 پرداخته شد که نتایج حاصل از آن پرداخته شده که نتایج حاصله از آن بیانگر کنترل متاستاز در رده سلولی مورد نظر بود (٤، ۹). در تعدادی محدودی از مطالعات نیز به بررسی *ساکارومایسس سروزیه* نوترکیب و ترکیبات استخراج شده از آن بر رده سلولی MCF-7 پرداخته شد که نتایج حاصل از آن ایجاد پاسخ های ضد تومور و کنترل متاستاز بود (١٦، ١٨). به طور کلی تحقیقات محدودی در مورد اثر سیتوپلاسمی مخمر ساکارومایسس سروزیه بر سلول‌های سرطانی از جمله سرطان سینه انجام شده است و با توجه به تجربیات قبلی که نشانگر اثرات ضدسرطانی این مخمر بر سلول‌های سرطانی می‌باشد، تحقیق حاضر به بررسی تاثیرات سیتوتوکسیک و آپوپتوزی عصاره‌ی سیتوپلاسمی مخمر (قارچ) ساکارومایسس سرویزیه بر رده سلولی MCF-7 پرداخته شد و نتایج حاصله از آن می‌تواند اهمیت ویژه ای در حوزه سرطان شناسی داشته باشد.

مواد و روش ها

در این تحقیق رده سلولی **MCF-7** از بانک سلولی دانشگاه فردوسی خریداری شد و در تمام مراحل تحقیق توجه به استاندارد های جهانی اصول اخلاقی و پژوهشی رعایت شد

کشت و شمارش سلول‌های سرطانی: جهت کشت سلول‌ها، از محیط کشت RPMI-1640+10% FBS

استفاده شد. سلول‌های دفریز شده به فالکون حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط RPMI-1640 منتقل شده و به مدت ۵ دقیقه در ۱۳۰۰rpm سانتریفوژ گردیدند. رسوب سلولی ته فالکون به فلاسک ۲۵ میلی متر مربع حاوی ۱۰-۷ میلی‌لیتر محیط کشت کامل (RPMI1640 حاوی FBS ۱۰ درصد) منتقل شد و به انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد حاوی ۵ درصد دی اکسید کربن انتقال یافت. پس از کشت، شمارش سلولی، با لام نئوبار انجام گرفت.

تهیه عصاره مخمری: به‌منظور تهیه عصاره سیتوپلاسمی از سویه استاندارد مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* (ptcc5052) موجود در بانک سلول‌های قارچی بخش‌قارچ‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه استفاده شد. مخمرها بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار حاوی آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل کشت و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. پس از تهیه کشت های تازه و خالص مخمری، جهت انبوه‌سازی آن، از محیط کشت مایع YPG (گلوکز: ۲۰ گرم، پپتون: ۲۰ گرم، عصاره مخمری: ۱۰ گرم در یک لیتر آب مقطر) حاوی آنتی-بیوتیک کلرامفنیکل استفاده شد. محیط‌های کشت به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد در انکوبـاتور شیکردار و با دور ۱۳۰ دور دقیقه نگهداری شدند. سپس سلول‌های مخمری با سانتریفوژ یخچال دار با ٤۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه جمع آوری شده و سه بار با آب مقطر استریل به روش سانتریفوژ با ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه شستشو داده‌شدند. به منظور شکستن سلول‌ها از روش سونیکاتور استفاده شد. بعد از شکسته شدن کامل سلول‌ها، جهت رسوب دادن دیواره سلولی از سانتریفیوژ یخچال‌دار با دور ۱۲۰۰۰ و مـدت ۱۰ دقیقـه و با دمای ٤ درجه استفاده شد. مایع رویـی حاصل جهت تهیه عصاره‌ی سیتوپلاسمی بـه دستگاه اولتراسانتریفیوژ بـه مدت ۱ دقیقه و با دور ۱۰۰۰۰۰ انتقال داده شد و به درون لوله‌های مجزا ریخته شد و با استفاده از کیسه دیالیز عمل دیالیز انجام پذیرفت.

تیمار سلول‌ها: در این تحقیق رده سلولی مورد نظر با غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم/میلی-لیتر عصاره مخمر به مدت ٢٤، ٤٨ و ۷۲ ساعت مورد تیمار قرار گرفتند.

انجام تست MTT: ابتدا تعداد مناسبی سلول (۵۰۰۰ سلول) در هر یک از چاهک‌ها کشت داده شد. سپس چاهک‌های کنترل و تیمار انتخاب شده و عصاره سیتوپلاسمی مخمر (۵۰۰، ۲۰۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر) به چاهک‌ها اضافه شد و پلیت به مدت ٢٤، ٤٨ و ۷۲ ساعت جهت تاثیر عصاره انکوبه شد. پس از اتمام زمان انکوباسیون محیط کشت روئی را دور ریخته، به هر چاهک ۸۰ میکرولیتر محیط کشت FBS دار به همراه ۲۰ میکرولیتر محلول MTT اضافه شد و به مدت ۲ تا ٤ ساعت در انکوباتور و در شرایط CO_2 **۵ درصد** و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. در طی زمان انکوباسیون MTT توسط سیستم سوکسینات دهیدروژناز که یکی از آنزیمهای چرخه تنفسی میتوکندریهاست احیا می‌شود. احیا و شکسته شدن این حلقه موجب تولید کریستال‌های آبی رنگ فورمازان می‌شود که در زیر میکروسکوپ براحتی قابل تشخیص هستند. میزان رنگ تولید شده با تعداد سلول‌هایی که از نظر متابولیک فعال هستند، رابطه مستقیم دارد. کریستال‌های فورمازان در آب غیرمحلول بوده و بایستی قبل از رنگ سنجی توسط ماده حلالی نظیر DMSO بحالت محلول درآیند. در نهایت جذب نوری محلول بدست آمده در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد و به کمک منحنی استاندارد درصد سلول‌های زنده محاسبه شد.

تست فلوسایتومتری: جهت بررسی آپوپتوز در سلول‌ها، ۷۲ ساعت پس از تیمار سلول‌ها با عصاره

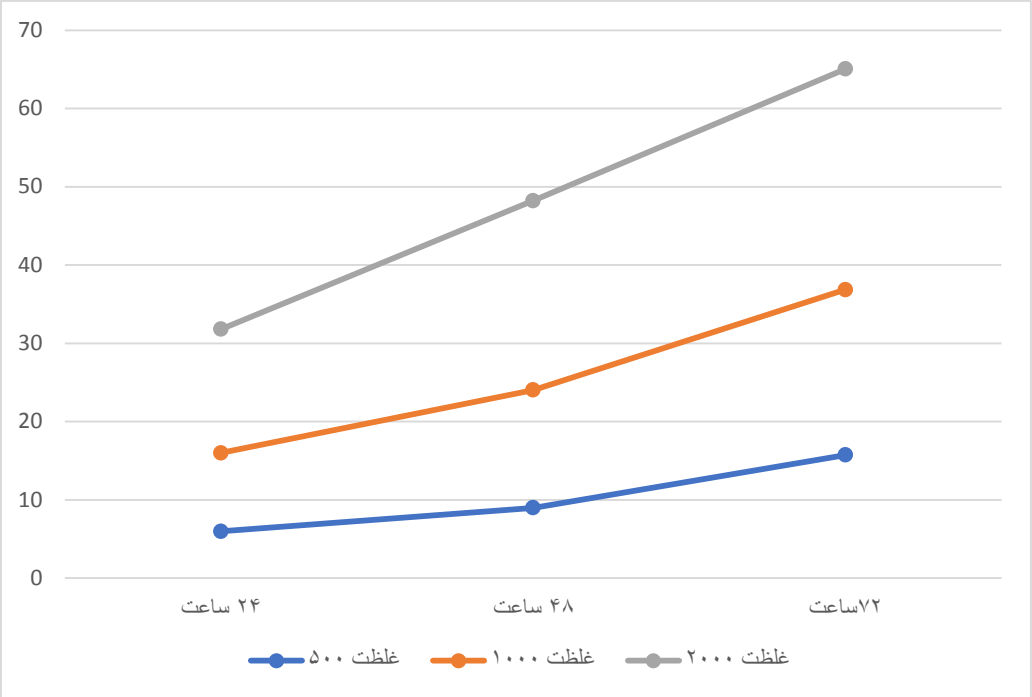
سیتوپلاسمی، تعداد ۲۰۰۰۰۰ سلول برداشته شد و سلول‌ها ابتدا در لوله فالکون ۱۵ میلی‌لیتری با PBS شسته و سپس به سلول‌های حاصل ۲۰۰ میکرولیتر محلول Binding Buffer اضافه شد و بعد از سانتریفیوژ میزان۵ میکرولیتر آنکسین V کنژوگه با FITC به ۱۹۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون سلولی اضافه شد. سپس سلول‌ها ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. سلول‌ها مجدد با ۲۰۰ میلی‌لیتر Binding Buffer شستشو و به سلول‌های شستشو داده شده ۱۹۰ میکرو لیتر Binding buffer اضافه شد. در مرحله بعد به سوسپانسیون سلولی۱۰ میلی‌لیتر ترکیب پروپدیوم یداید اضافه شد و نمونه توسط دستگاه فلوسایتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت.

آنالیز آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS20 و آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تفاوت بین گروه‌ها در $p < ۰/۰۵$ معنادار در نظر گرفته شد.

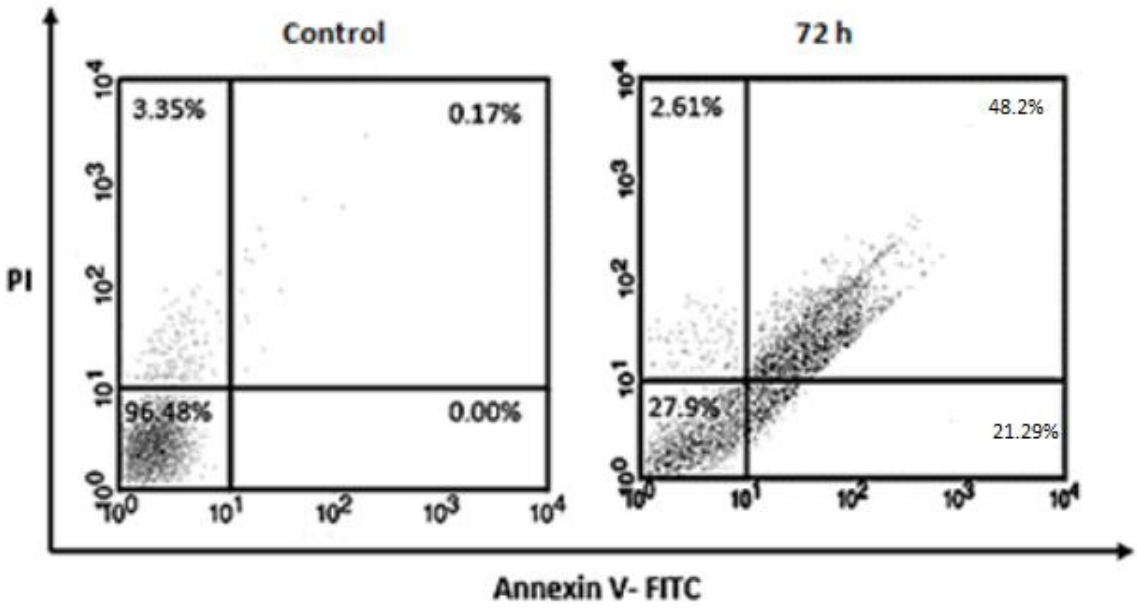
نتایج

نمودار ۱ بیانگر اثرات سیتوتوکسیک عصاره بر زنده مانی سلول‌ها در زمان‌های مختلف است. مطابق این نمودار در طی زمان هرچه غلظت عصاره سیتوپلاسمی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* بیشتر می‌شود، درصد مرگ سلول‌های سرطانی پستان نیز افزایش می‌یابد. عصاره سیتوپلاسمی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* با غلظت ۲۰۰۰ بیشترین درصد مرگ سلولی را در ۷۲ ساعت بعد از تیمار داشت. نتایج این مطالعه نشان دادند که تیمار با غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر لیتر سبب کاهش معنادر زنده مانی سلول‌ها ۷۲ ساعت پس از تیمار در مقایسه با ٤٨ ساعت (**$p < ۰/۰۵$**) **و** ٢٤ ساعت (**$p < ۰/۰۰۱$**) **پس از تیمار گردید**. بر این اساس نتایج نشان دادند که درصد مرگ سلول‌های سرطانی پستان در حالت وابسته به دوز و دوره زمانی تیمار با عصاره، دچار افزایش می‌گردد.

نتایج فلوسایتومتری نشان دادند که ۷۲ ساعت پس از تیمار سلول‌ها با عصاره‌ی مخمر، حدود ٤٨/٢ ٪ است از سلول‌ها هم آنسکین Vو هم PI مثبت بودند که این امر نشانگر آن بود که این سلول‌ها در مراحل انتهایی آپوپتوز قرار داشتند. از سویی ۲۱/۹ ٪ از سلول‌ها دارای تست آنکسین V مثبت ولی PI منفی بودند که بیانگر آن بود که این سلول‌ها در مراحل ابتدایی آپوپتوز قرار داشتند. همچنین جمعیتی حدود ٢/٦ ٪ از سلول‌ها PI مثبت و آنکسین V منفی و در نتیجه دچار نکروز بودند. از طرفی ۲۷/۹ درصد از سلول‌ها آنکسین V منفی و PI منفی و در نتیجه سالم بودند. در گروه کنترل ۰/۱۷ درصد سلول‌ها در مراحل انتهایی آپوپتوز، ۳/۳۵ درصد دچار نکروز و اکثریت سلول‌ها؛ یعنی، ٩٦/٤٨ درصد از سلول‌ها، سالم بودند (نمودار ۲).



نمودار۱. اثر سیتوتوکسیک عصاره سیتوپلاسمی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* با غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر بر سلول‌های سرطانی **MCF-7** در دروه های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار.



نمودار۲. نتایج فلوسایتومتری سلول‌های**MCF-7** تیمار شده با عصاره‌ی سیتوپلاسمی ساکارومایسس سروزیه (۲۰۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) به مدت ۷۲ ساعت در مقایسه با گروه کنترل.

بحث

سرطان مشکل عمده بهداشتی در بسیاری از کشورهای دنیا محسوب می‌شود. بررسی‌ها در آمریکا نشان می‌دهند از هر چهار مورد مرگ میر یک مورد ناشی از سرطان است. در حال حاضر سرطان دومین عامل مرگ میر در کشورهای توسعه یافته و سومین عامل مرگ میر در کشورهای در حال توسعه است (۲۲). تعدادی از عوامل خطر ساز که تاثیر بسیاری در ایجاد سرطان سینه دارند شامل: مصرف هورمون با منشاء خارجی به ویژه قرص‌های پیش‌گیری از بارداری و استروژن جایگزین در دوران یائسگی، مصرف دخانیات و مصرف غذاهای چرب وپرکالری می‌باشد که از عوامل تاثیرگذار در ابتلا به سرطان سینه محسوب می‌شوند (۵).

با توجه به اثرات مخرب مواد شیمیایی در سال‌های اخیر استفاده از مواد با منشا گیاهی و قارچی مثل مخمرها در مسیرهای درمانی رواج پیدا کرده است. هدف از این مطالعه بررسی تاثیرات سیتوتوکسیک و آپوپتوزی عصاره‌ی سیتوپلاسمی قارچ *ساکارومایسس سرویزیه* بر رده سلولی MCF-7 بوده است. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان دادند که عصاره سیتوپلاسمی این مخمر که حاوی مواد تاثیرگذاری است باعث افزایش روند آپوپتوز در این سلول‌ها در مسیری وابسته به دوز و زمان می‌شود.

هم‌راستا با این تحقیق، امروزه روش‌های درمانی جدید و با عوارض کمتر در درمان سرطان‌ها به ویژه با رویکرد استفاده از گیاهان دارویی بسیار مورد توجه قرا گرفته است (۲۱). مطالعات روی تاثیرات عصاره-ها بر روی سرطان‌های مختلف نتایج مثبتی در پی داشته است (۱۲).

در سال‌های اخیر توجه به استفاده از قارچ‌ها در در کارهای بالینی رو به افزایش گذاشته است (۱۰). همچینین مطالعاتی در مورد ترکیبات ناهمگن از قارچ‌ها مانند مخمرها و کاربرد آنها در موارد بالینی در سال‌های اخیر مورد توجه بوده است، گرچه اکثر مطالعات انجام شده بر روی مخمر کاندیدا و موارد مصرف آن در کنترل متاستاز در سرطان‌هایی مثل سرطان خون و سرطان سینه بوده است (۱۳). موافق با یافته‌های تحقیق حاضر در مطالعه ای اثرات ضد سرطانی سویه‌های مختلف مخمر بر سلول‌های سرطان سینه MCF-7 بررسی شد و نتایج نشان دادند که عصاره‌ی الیاف قارچ (مخمر) *ساکارومایسس سرویزیه* دارای اثر ضدسرطانی قابل توجهی بر سلول‌های سرطانی پستان است (۶).

در مطالعه دیگری اثرات عصاره‌ی سیتوپلاسمی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* بر رده سلولی سرطانی لوسمیایی بررسی شده و نتایج نشان داده اند عصاره سیتوپلاسمی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* فعالیت ضدتوموری وابسته به زمان دارد و نتایج فلوسایتومتری نشان‌دهنده القای آپوپتوز بوده است (۱).

در مطالعه دیگری نشان داده شده است *Saccharomyces boulardii*، که گونه ای از مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* است و به عنوان مخمر پروبیوتیک در صنایع غذایی و دارویی استفاده می‌شود دارای اثرات سیتوتوکسیک و آپاپتوتیک بر MCF-7 می‌باشد (۱۴). در مطالعه دیگری در اینجا، سلول‌های MCF-7 به موش‌ها تزریق شده، سپس موش‌ها به صورت هفتگی به مدت ۴۵ روز به صورت داخل توموری با مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* مورد تزریق قرار گرفتند و متعاقبا تومورها برداشته شدند مورد ارزیابی واقع شدند. نتایج نشان‌دهنده توانایی سلول‌های MCF-7 در فاگوسیتیزه کردن مخمر و اثربخشی مخمر در ایجاد آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پستان بود و نتایج فلوسیتومتری نیز وقوع

آپوپتوز را تایید کردند و هیچ عارضه جانبی قابل توجهی از درمان با مخمر مشاهده نشد (۷). از نظر مکانیسم عمل مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* بر سلول سرطانی پستان مطالعات نشان داده‌اند که رده‌های سلولی غیرمتاستاتیک سرطان سینه انسان نیز به دنبال فاگوسیتوز *ساکارومایسس سرویزیه* تحت آپوپتوز قرار می‌گیرند. در این راستا نتایج نشان داده اند که افزایش آپوپتوز با افزایش I [+ Ca2] همراه بوده و افزودن ۲- آمینواتوکسی دی‌فنیل بورات که یک مهارکننده دارویی انتشار +Ca2 از شبکه آندوپلاسمی است، به طور موثر آپوپتوز ناشی از مخمر را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، مخمر باعث کاهش قابل توجهی در بیان Bcl-2 و افزایش Bax و در نتیجه تغییر در نسبت Bax:Bcl-2 می‌گردد گرچه هیچ تاثیری بر سطوح NO ندارد (۸).

در نهایت باید گفت مطالعات بیشتری جهت بررسی اثرات ضدسرطانی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* به صورت in vivo و نیز بالینی مورد نیاز است تا اثرات ضد سرطانی این مخمر بر سلول‌های سرطانی پستان را تایید نمایند.

نتیجه گیری

در مجموع نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهند که عصاره سیتوپلاسمی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* دارای اثر سیتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی پستان بوده و این اثر از طریق القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پستان میانجی‌گری می‌شود. نتایج این تحقیق می‌توانند در حوزه درمان سرطان پستان مورد توجه قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد جهت پشتیبانی در اجرای این پژوهش تقدیر و تشکر به عمل می‌آورند.

منابع

1. Bonyadi F., Nejati V., Tukmechi A., Hasanzadeh S., Mokarizadeh A. 2017. An investigation of the complex effects of a *Saccharomyces cerevisiae* cytoplasmic extract on apoptosis in K562 cells. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 19(1):e28773.

2. Danafar H., Kheiri Manjili H.R., Attari E., Sharafi A. 2017. Investigation of Drug Delivery of Rattle-Structured Gold Nanorod-Mesoporous Silica Nanoparticles Core- Shell as Curcumin Carrier and Their Effect on MCF7 and 4T1 Cell Lines, *Journal of Advances in Medical and Biomedical Research*, 25(113):122-134.

3. Esmail Nasab N., Moradi G., Zareie M., Ghaderi E., Gheytasi B. 2007. Survey of epidemilogic status and incidence rates of cancers in the patients above 15 years old in Kurdistan province. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 11(4):18-25.

4. Fallahian F., Mahdavi N., Haeri M. 2019. The cytotoxic effect of hyssop extract on breast cancer cell line. *Qom University of Medical Sciences Journal*, 13(7):22-28. [in Persian].

5. Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I., Parkin D. M., Piñeros M., Znaor A., Bray F. 2021. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *International Journal of Cancer*, 149(4):778-789.

6. Ghoneum M., Gollapudi S. 2006. Apoptosis of breast cancer MCF-7 cells in vitro is induced specifically by yeast and not by fungal mycelia. *Anticancer Research*, 26(3A):2013-2022.

7. Ghoneum M., Wang L., Agrawal S., Gollapudi S. 2007. Yeast therapy for the treatment of breast cancer: a nude mice model study. In Vivo, 21(2):251-258.

8. Ghoneum M., Matsuura, M., Braga, M., Gollapudi, S. 2008. S. cerevisiae induces apoptosis in human metastatic breast cancer cells by altering intracellular Ca2+ and the

the potential role of its oxidation products. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 73(1):19-23.

17. Shehneh M.S., Kalantar S.M., Sheikhha M.H., Kojabad A.S., Haghiralsadat B.F. 2019. Study of anti-cancer effects of Curcumin; formulation of Curcumin-loaded nano carrier and its toxicity effect on MCF-7 Cell line., *Journal of Shaeed Sdoughi University of Medical Sciences Yazd*, 27(1):1174-1186. [in Persian]

18. Wansley E.K., Chakraborty M., Hance K.W., Bernstein M. B., Boehm A.L., Guo Z., Hodge J.W. 2008. Vaccination with a recombinant *Saccharomyces cerevisiae* expressing a tumor antigen breaks immune tolerance and elicits therapeutic antitumor responses. *Clinical Cancer Research*, 14(13):4316-4325.

19. Wu Q., Kroon P.A., Shao H., Needs P.W., Yang X. 2018. Differential effects of quercetin and two of its derivatives, isorhamnetin and isorhamnetin-3-glucuronide, in inhibiting the proliferation of human breast-cancer MCF-7 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(27):7181-7189.

20. Yedjou C.G., Sims J.N., Miele L., Noubissi F., Lowe L., Fonseca D.D., Tchounwou P.B. 2019. Health and racial disparity in breast cancer. *Breast cancer metastasis and drug resistance: Challenges and Progress*, 31-49.

21. Zare M., Ebrahimi VostaKalaee S., Aezi H. 2020. Analysis the Cytotoxicity Effects of Hydroalcoholic Extract of Danae Racemosa Plant on Mouse Breast Cancer Cells (4T1) 18 by MTT. *Journal of Knowledge and Health*, 15(1):49-57.

22. Zeinalzadeh A.H., Kousha A., Abdullahi L., Golzari Mn, Javaheri J. 2012. Pattern of Age Distribution of Different Cancers in East Azerbaijan province, IRAN, *Journal of Kerman University of Medical Sciences*, 19(3):308.

ratio of Bax and Bcl-2. *International Journal of Oncology*, 33(3):533-539.

9. Gordanian B., Behbahani M., Carapetian J., Fazilati M. 2013. Evaluation of cytotoxicity of sagebrush plain extract on human breast cancer MCF7 cells. *Armaghane Danesh*, 18(3):241-251.

10. Lull C., Wichers H.J., Savelkoul H.F. 2005. Anti-inflammatory and immune-modulating properties of fungal metabolites. *Mediators of Inflammation*, 9 (2):63-80.

11. Mokhtarnejad L., Farzaneh M. 2021. A review on yeasts roles and applications on biological control of plant diseases, *BioControl in Plant Protection*, 8(1):137-157.

12. Naeimi S., Khashei K., Gholamian AR., Alipour M. 2020. Effect of curcumin on growth inhibition and gene expression reduction in chronic lymphocytic leukemia cells (CLL-CII). *Armaghane-Danesh.* 25(2):189-200. [in Persian] .

13. Nikdoost H., Eidi S., MohebAlian H. 2020. Investigating the cytototoxicity effects of cytoplasmic extract of Candida albicans on cancer category C140. *Journal of Veterinary Microbiology*, 16(1):107-117. [in Persian]

14. Pakbin B., Dibazar S.P., Allahyari S., Javadi M., Amani Z., Farasat A., Darzi S. 2022. Anticancer properties of probiotic Saccharomyces boulardii supernatant on human breast cancer cells. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 30:1-9.

15. Pecorino L. 2016. Molecular biology of cancer: mechanisms, targets, and therapeutics. Oxford University Press, USA.

16. Ravi Subbiah M., Abplanalp W. 2003. Ergosterol (major sterol of baker's and brewer's yeast extracts) inhibits the growth of human breast cancer cells in vitro and

The Apoptotic Effects of *Saccharomyces cerevisiae* Cytoplasmic Extract on MCF-7 Cell Line

Ahmadreza Gholamian Varnamkhasti[1], Mohammad Heidarpour [2], Hadi MohebAlian[3*]

1- Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University, Iran
2- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University, Iran
3- Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University, Iran

Abstract

Although many studies have been conducted on the anticancer effects of plant extracts, few studies have been done on the anticancer effects of fungal extracts. The aim of this study was to investigate the apoptotic effects of *Saccharomyces cerevisiae* cytoplasmic extract on MCF-7 cell line. In this experimental laboratory study, MCF-7 breast cancer cells were treated with 500, 1000, and 2000 µg/mL of *Saccharomyces cerevisiae* extract for 24, 48, and 72 hours. Cell viability was assessed using MTT assay and cellular apoptosis was determine using flow cytometry. The data were analyzed using one-way analysis of variance. The results of the MTT test showed the percentage of cell viability decreased corresponding to an increase in the concentration and the treatment duration of the extract such that the lowest percentage of cell viability was observed at a concentration of 2000 and a duration of 72 hours. The flow cytometry results confirmed apoptotic cell death in cancer cells. The results of this study indicate the cytotoxic effects of *Saccharomyces cerevisiae* extract on breast cancer cells. The flow cytometry results confirmed that the cytotoxic effects were due to the induction of apoptosis in cancer cells.

Keywords: Saccharomyces cerevisiae, Breast cancer, MTT assay, Flow cytometry.