

مقایسه دو روش رنگ‌سنجی MTT و تریپان بلو در تعیین سیتوتوکسیسیته کال پروتکتین بر سلول‌های سرطانی معده انسان در شرایط آزمایشگاهی

محمدعلی شکرگزار[✉]، Ph.D.، حکیمه زالی*، M.Sc.،
مصطفی رضایی طاویرانی**، Ph.D.، امیر امان‌زاده***، DVM

چکیده

هدف: سنجش میزان بقاء و تکثیر سلولی در تعیین میزان اثر داروهای ضدسرطانی بر روی سلول‌ها امری مهم به نظر می‌رسد که در این خصوص روشهای متعددی استاندارد شده است. کال پروتکتین متالوپروتئینی است که در سیتوزول نوتروفیل، ماکروفاژ، لنفوسیت، مونوسیت و سلولهای اجدادی ماکروفاژها وجود دارد و اثر مهاری آن در برخی سرطان‌ها گزارش شده است و نشان داده شده که کال پروتکتین می‌تواند به عنوان یک عامل درمانی در سرطان مطرح باشد. کال پروتکتین دارای نقش‌های ضدباکتری، ضد قارچ، تعدیل‌کننده ایمنی و خواص ضدتکثیر و شیموتاکتیک می‌باشد. در این مطالعه دو روش رنگ‌سنجی MTT و تریپان بلو در تعیین سیتوتوکسیسیته کال پروتکتین بر سلول‌های سرطانی معده انسان در شرایط آزمایشگاهی مقایسه شده است.

روش بررسی: کال پروتکتین از سلول‌های نوتروفیل انسان با روشهای کروماتوگرافی تخلیص شد. در این مطالعه از رده سلولی سرطان معده (AGS) در محیط کشت RPMI، حاوی ۱۰٪ FBS استفاده شده است. تعداد سلول‌های مورد مطالعه در این آزمایش حدود ۱۰۰۰۰ سلول بوده است که در حضور غلظتهای مختلف ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ $\mu\text{g/ml}$ از کال پروتکتین در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه شده‌اند. جهت بررسی اثر مهاری کال پروتکتین بر رشد سلول از دو روش رنگ‌سنجی MTT assay و تریپان بلو (trypan blue) استفاده شده است.

یافته‌ها: نتایج حاصل از بررسی اثر کال پروتکتین بر میزان مرگ و میر سلولهای AGS نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین دو روش MTT و تریپان بلو وجود دارد ($P < 0.01$) به طوری که LC_{50} این دارو در همه فواصل زمانی انکوباسیون در روش MTT پایین‌تر از تریپان بلو می‌باشد. LC_{50} کال پروتکتین بر سلول‌های AGS در روش رنگ‌سنجی تریپان بلو در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۱/۴۱، ۷۱ و ۳۳/۲۹ $\mu\text{g/ml}$ و در روش MTT ۹۶/۷۸، ۳۸/۶۶ و ۹/۸۶ $\mu\text{g/ml}$ بود. علاوه همبستگی (correlation) بین نتایج بدست آمده در دو روش رنگ‌سنجی در فواصل زمانی مختلف، خطی، مثبت و معنی‌دار محاسبه شد ($p < 0.01$ تا $p < 0.001$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از دو نوع روش مطالعه توکسیسیته کال پروتکتین بر سلول‌های سرطانی معده هماهنگ بوده ولی روش MTT از حساسیت بالاتری برخوردار می‌باشد و با توجه به اجرای آسانتر در روش MTT می‌توان این روش را مناسب، دقیق و سریع معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: کال پروتکتین، سرطان معده، اثر مهاری، تریپان بلو و MTT assay.

دریافت مقاله: ۸۵/۶/۱۶، اصلاح مقاله: ۸۶/۳/۵، پذیرش مقاله: ۸۶/۵/۱

✉ نویسنده مسئول: استادیار بانک سلولی ایران، انستیتو پاستور ایران، تهران - ایران

* کارشناس ارشد گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه خاتم

** استادیار گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

*** انستیتو پاستور ایران، بانک سلولی ایران

آدرس پست الکترونیکی: mashokrgozar@pasteur.ac.ir