بررسی اثر مقایسه‌ای ۵-FU بر میزان بیان ژن‌های BAX و Bcl2 در محیط های High و Normal گلوکز در سلول‌های سرطان کولورکتال انسانی (HT-29) تحت شرایط هیپوکسی

پریسا کدخدا*[۱]، الهام چمنی[۲]، محسن خراشادی زاده[۳]

۱- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

۲- گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران، دانشیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

۳- گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران، استادیار گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

پریسا کدخدا: parisakadkhoda792@gmail.com

چکیده

هدف: سرطان روده بزرگ (CRC) سومین سرطان شایع در سراسر جهان است. شیمی درمانی به‌طور گسترده‌ای در درمان CRC استفاده می‌شود، و 5-FU مهم‌ترین عامل در درمان CRC در میان عوامل مختلف شیمی درمانی موجود بوده است. اگرچه بسیاری از مطالعات بر اثر ضد تکثیری 5-FU در سرطان کولورکتال صورت گرفته است، اما مطالعه‌ای در مورد اثرمقایسه‌ای 5-FU بر میزان بیان ژن‌های BAX و Bcl2 در محیط‌های High و Normal گلوکز در سلول‌های سرطان کولورکتال انسانی (HT-29) تحت شرایط هیپوکسی صورت نگرفته است.

مواد و روش‌ها: سلول‌های HT-29 درمحیط DMEM حاوی ۱۰٪ FBS و ۱٪ آنتی‌بیوتیک کشت داده شدند. سپس سلول‌ها به‌مدت ۷۲ساعت با غلظت‌های مختلف 5-FU، (۵۰ µM، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵) و کبالت (۵۰،۱۰۰،۱۵۰،۲۰۰ µM) در دو محیط High و Normal گلوکز، تیمار شدند. از روش MTT برای بررسی سمیت سلولی 5-FU و کبالت در هر دو محیط استفاده شد. علاوه بر این، بیان BAX و Bcl2 توسط qRT-PCR ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج تست MTT نشان داد که مقدار IC50 برای سلول‌های تیمار شده با غلظت ۱۵۰ میکرومولار کبالت در محیط High گلوکز بالاتر از محیط Normal گلوکز بود (IC50 برای High گلوکز و Normal گلوکز؛ ۲۸/۴۸۵۶ میکرومولار، ۲۰/۵۷۴۰ میکرومولار). این مطالعه هم‌چنین نشان داد که مقدار IC50 در شرایط هیپوکسیک، هم در محیط High گلوکز و هم در محیط Normal گلوکز، بالاتر از شرایط نرموکسی بود. علاوه بر این، نسبت BAX/Bcl2 در گروه Normal گلوکز بیشتر از گروه Normal گلوکز بود.

نتیجه‌گیری: می‌توان نتیجه گرفت که غلظت گلوکز ممکن است نقش مهمی در سمیت سلولی 5-FU در CRC داشته باشد. این یافته‌ها نیاز به تحقیقات بیشتر برای بررسی رابطه بین غلظت گلوکز و سمیت سلولی 5-FU را نشان می‌دهد که می‌تواند پیامدهای مهمی برای درمان سرطان کولورکتال داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: سرطان کولورکتال، 5-FU، هایپوکسی، محیط High و Normal گلوکز، BAX، Bcl2

Investigating the comparative effect of 5-FU on the expression level of BAX and Bcl2 genes in high glucose and normal glucose mediums in human colorectal cancer cells (HT-29) under hypoxic conditions

Parisa Kadkhoda[1*], Mohsen Khorashadizadeh[2], Elham Chamani[3]
1- Student Research Committee, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
2- Department of Medical Biotechnology, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
3- Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

Parisa Kadkhoda: parisakadkhoda792@gmail.com

Introduction: Colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer worldwide. Chemotherapy is a widely used treatment for CRC. 5-FU has been the most significant in treating CRC among the various chemotherapeutic agents available. However, many studies have investigated the antiproliferative effect of 5-FU in colorectal cancer, the comparative effect of 5-FU on the expression level of BAX and Bcl2 genes in high and normal glucose medium in human colorectal cancer cells (HT-29) under hypoxic conditions has not been studied.

Methods and Materials: HT-29 cells were cultured in DMEM medium supplemented with 10% FBS and 1% antibiotic. Then, cells were treated with different concentrations of 5-FU (3.125, 6.25, 12.5, 25, 50µM) and Cocl2 (50,100,150,200µM) in both high and normal glucose mediums for 72 hours. The MTT assay was used to investigate the cytotoxicity of the 5-FU and Cocl2 in both mediums. Furthermore, BAX and Bcl2 expressions were assessed by qRT-PCR.

Results: The MTT assay results demonstrated that the IC50 value for cells treated with 150 µM concentration of Cocl2 in high glucose medium was higher than normal glucose medium (IC50 for high glucose and normal glucose; 28.4856 µM,20.5740 µM). This study also revealed that IC50 value in hypoxic conditions, in both high and normal glucose medium, was higher than in normoxic conditions. Additionally, the BAX/Bcl2 ratio in the normal glucose group was higher than in the high glucose group.

Conclusion: Glucose concentration may play a critical role in the cytotoxicity of 5-FU in CRC. These findings highlight the need for further research to explore the relationship between glucose concentration and the cytotoxicity of 5-FU. This could have significant consequences for the treatment of colorectal cancer.

Keywords: Colorectal Cancer, 5-FU, High and normal glucose, Cocl2, BAX, Bcl2