Research on Medicine Original Article

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2020 ;Vol.44; No.2

# Effect of Dexamethasone on *Fas/FasL* and *Bax/Bcl2* mRNA Expression in Human Colorectal Cancer HT-*29* Cell Line

**Pantea Hajimirza Shafiesoltani[1], Flora Forouzesh[*1], Mahdi Shabani[2]**

1. *Department of Genetics, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
2. *Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

(Received: 2019/04/12 Accept:2019/07/14)

## Abstract

***Background:*** *Colorectal cancer is one of the most common cancers and among the most common causes of cancer death worldwide. Dexamethasone is a glucocorticoid medication which has anti-proliferative and anti-inflammatory properties that induce apoptosis and growth inhibition in human myeloma cell lines in vitro. The aim of the current study was to determine the effects of dexamethasone against human colorectal cancer HT29- cell lines, relying on the expression of genes which are involved in extrinsic (Fas and Fasl) and intrinsic pathway of apoptosis (Bax and Bcl2).*

**Materials and methods:** *An experimental study was conducted. HT-29 cell line was cultured and then treated with various concentrations of dexamethasone (from 0.1 to 1000 µM) for 24h, 48h, and 72h incubation. The cytotoxicity was measured using MTT assay and IC50 was determined. Then, RNA was extracted from treated and untreated cells and cDNA was synthesized. Gene expression was investigated using qReal-Time PCR method. Data analysis was performed using the livak method.*

***Results:*** *Dexamethasone at 1000µM significantly inhibited the growth of treated HT-29 cells after 24h, 48h, and 72h incubation and IC50 was 1000µM after 48h. After treating cells at IC50 concentration, the mRNA expression of Fas and FasL did not change significantly in comparison with untreated cells ($p < 0.05$), while Bax and Bcl2- mRNA expression increased and decreased respectively in comparison with untreated cells ($p < 0.05$). Dexamethasone was effective against human colorectal cancer HT-29 cell line in a dose dependent manner and induced the intrinsic genes of apoptosis.*

***Conclusion:*** *Dexamethasone can inhibit the growth of human colon cancer HT-29 cell lines and induces apoptosis through the intrinsic pathway of apoptosis, while it has no effect on the extrinsic pathway of apoptosis.*

***Keywords:*** *Colorectal cancer; Apoptosis; Dexamethasone; HT-29 cell line*

**Correspondinauthor:Flora Forouzesh*

*Email: f8forouzesh@gmail.com*

[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-10-31 ]

پژوهش در پزشکی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
مقاله پژوهشی
دور ٤٤، شماره ٢، صفحات ٣٥٢ تا ٣٥٩

# بررسی اثر دگزامتازون روی تغییرات بیان رونوشت ژن‌های *Fas/FasL* و *Bax/Bcl2* در رده سلولی HT-29 سرطان کولورکتال انسانی

**پانتهآ حاجی‌میرزا شفیع سلطانی[1]، فلورا فروزش[1*]، مهدی شعبانی[2]**

۱- گروه ژنتیک، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۱/۲۳ تاریخ پذیرش مقاله:۱۳۹۸/۰۴/۲۳

## چکیده:

**سابقه و هدف:** سرطان کولورکتال یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها و عامل مرگ بر اثر سرطان در جهان است. دگزامتازون، یک داروی گلوکوکورتیکوئیدی و دارای خواص ضد تکثیری و ضد التهابی است که قادر به مهار رشد و القا آپوپتوز در رده‌های سلولی سرطان میلوما انسانی است. هدف از این تحقیق تعیین اثر این دارو روی رده سلولی *HT-29* سرطان کولورکتال انسانی با تکیه بر روی بیان ژن‌های مسیر خارجی آپوپتوزی (*Fas* و *FasL*) و بیان ژن‌های مسیر داخلی آپوپتوزی *Bax* و *Bcl-2* است.

**مواد و روش‌ها:** تحقیق به روش تجربی انجام شد. پس از کشت رده سلولی *HT-29*، سلول‌ها تحت تیمار با غلظت‌های مختلف دگزامتازون (۰/۱ میکرومول الی ۱۰۰۰ میکرومول) و زمان‌های مختلف (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) قرار گرفتند. بررسی سمیت با تست *MTT* ارزیابی و *IC50* تعیین شد. برای بررسی کمی تغییر بیان رونوشت ژن‌های *Fas/FasL* و *Bax/Bcl-2*، *RNA* ، از سلول‌های تیمار شده و تیمار نشده استخراج شد و پس از سنتز *cDNA*، بیان رونوشت ژن‌ها توسط *quantitative Real time-PCR* ارزیابی و آنالیز داده‌ها با استفاده از روش لیواک سنجیده شد.

**یافته‌ها:** دگزامتازون در غلظت ۱۰۰۰ میکرومول به کاهش سلول‌های زنده در هر سه بازه زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت منجرشده است، اما این غلظت بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون به عنوان *IC50* تعیین شد. پس از تیمار سلول‌ها در غلظت *IC50*، سطح بیان رونوشت ژن‌های *Fas* و *FasL* در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده تغییر معنادار مشاهده نشد($p<0.05$). در حالی که سطح بیان رونوشت ژن‌های *Bax* و *Bcl-2* به طور معنادار در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده به ترتیب افزایش و کاهش یافت($p<0.05$). دگزامتازون به روش وابسته به دوز و زمان روی رده سلولی *HT-29* سرطان کولورکتال انسانی اعمال اثر کرده است.

**نتیجه‌گیری:** دگزامتازون می‌تواند سبب مهار رشد در رده سلولی *HT-29* سرطان کولورکتال انسانی و همچنین به القا آپوپتوز از طریق مسیر داخلی منجر شود، در حالی که تاثیری روی القا آپوپتوز از طریق مسیر خارجی ندارد. بنابراین تیمار رده سلولی *HT-29* سرطان کولورکتال انسانی با غلظت معینی از دگزامتازون می‌تواند بیان ژن‌های دخیل در مسیر داخلی آپوپتوز را در راستای مرگ برنامه‌ریزی سلول تغییر دهد.

**واژگان کلیدی:** سرطان کولورکتال، آپوپتوز، دگزامتازون، رده سلولی *HT-29*

## مقدمه:

سرطان کولورکتال (CRC)، سرطان اپی‌تلیالی است که بخش کولون و رکتوم را درگیر می‌کند. سرطان کولورکتال یک بیماری ناهمگن (heterogeneous) است و حاصل تجمع چندین جهش ژنتیکی و تغییرهای اپی‌ژنتیکی در ژن‌های دخیل در آپوپتوز، تمایز و رشد سلول است(۱). این سرطان یکی از رایج‌ترین انواع سرطان است که سالانه ۱/۲۳ میلیون نفر را تحت تاثیر قرار می‌دهد و چهارمین دلیل رایج مرگ ناشی از سرطان در جهان است(۲).

آپوپتوز مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده است(۳) و یکی از اعمال مهم آن حذف سلول‌های آسیب دیده مانند سلول‌هایی که در معرض عوامل کارسینوژن قرار گرفته‌اند و دچار آسیب ژنتیکی شده‌اند، است. در مسیر خارجی آپوپتوز، یعنی

**نویسنده مسئول:** فلورا فروزش

**پست الکترونیک:** *F8forouzesh@gmail.com*



[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-10-31 ]

رسپتورهای مرگ اعضا خانواده لیگاند TNF1 به رسپتورهای ویژه از خانواده رسپتور TNF متصل می‌شوند و به راه‌اندازی مسیرهای پیام‌رسان گوناگون در درون سلول منجر می‌شوند که این مسیرهای پیام رسان می‌توانند به آپوپتوز، تمایز و تکثیر سلول منجر شوند(۴). در این مسیر، سه مولکول TNF-$\alpha$، لیگاند Fas (FasL، CD95L) و TRAIL با اتصال به گیرنده اختصاصی‌خود به القا آپوپتوز منجر می‌شوند(۵). در مسیر داخلی (میتو کندریایی) پروتئین‌های پیش برنده آپوپتوز۲ نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری را نسبت به سیتوکروم c داخلی افزایش می‌دهند و این امر به ترشح یا آزادسازی سیتوکروم c به درون فضای سیتوسولی منجر می‌شود(۶,۷). سیتوکروم c با Apaf-13، آدنوزین تری‌فسفات و پروکاسپاز ۹ واکنش می‌دهد و آپوپتوزوم۴ شکل می‌گیرد. درون آپوپتوزوم، پروکاسپاز ۹ به کاسپاز ۹ شکسته و فعال می‌شود و در ادامه به فعال‌سازی کاسپازهای ۳، ۶ و ۷ منجر و تحریک آپوپتوز می‌شود(۷,۸).

آبشاری از کاسپازهای آغازگر و اجراکننده در القای آپوپتوز دخالت داشته که به ترتیب فعال می‌شوند(۹,۱۰). کاسپازها خانواده‌ای از سیستئین پروتئازها هستند که به صورت زیموژن‌های غیر فعال در سلول حاضر هستند(۹). کاسپازهای اجراکننده، مثل کاسپاز ۳ توسط کاسپازهای آغازگر نظیر کاسپاز ۹ فعال می‌شوند. کاسپازهای اجراکننده منجر به القای شکست پروتئولیتیکی اهداف سلولی مختلفی نظیر poly-(ADP-ribose) polymerase (۱۱,۱۲)، پروتئین کیناز وابسته به DNA، پروتئین کیناز C-$\delta$، و دیگر سوبستراها (۱۳) می‌شوند که در نهایت به مرگ سلولی منجر می‌شود. مطالعه‌های اخیر نشان داده، مهارکننده آپوپتوز 5(IAP)، خانواده‌ای از پروتئین‌هاست که آپوپتوز را از طریق اتصال مستقیم و مهارکننده به کاسپازها، مهار می‌کند(۱۴,۱۵).

به عنوان مثال XIAP، c-IAP-1 و c-IAP-2 به پروکاسپاز۹ متصل و مانع از فعال شدنش می‌شوند(۱۶) همچنین مانع از شکست پروتئولیتیکی کاسپاز ۳، ۶ و ۷ می‌شود(۱۷). با ترشح سیتوکروم C از میتوکندری یکی از آبشارهای اصلی کاسپاز به راه می‌افتد(۱۸،۱۹)سیتوکروم C سیتوسولی به Apaf-1 متصل می‌شود و فعال‌سازی کاسپاز ۳ که وابسته به کاسپاز ۹ است را القا می‌کند(۲۱,۲۲). یک تنظیم کننده مهم آپپتوزی شناسایی شده است تحت عنوان Smac6 که در طول آپوپتوز از میتوکندری به درون سیتوزول آزاد می‌شود(۲۳,۲۵) و آثار مهاری IAPها روی کاسپازها را مهار می‌کند(۲۵,۲۶). مطالعه‌های پیشین به اثبات رسانده است که آپوپتوز القا شده توسط دگزامتازون وابسته به ترشح سیتوکروم C و فعال‌سازی کاسپاز ۳ است(۲۷,۲۸).

فرار از مرگ برنامه‌ریزی شده سلول یکی از ویژگی‌های سلول‌های سرطانی است و نقص در مسیر پیام‌رسان مرگ سلولی یک پدیده اساسی در سرطان کولورکتال است. بنابراین تمامی درمان‌های غیرتهاجمی سرطان، در نهایت به القای مرگ سلولی منجر خواهند شد(۲۹). سلول‌های توموری از مکانیسم‌های مولکولی متنوعی برای مهار آپوپتوز استفاده می‌کنند. سلول‌های توموری قادرند مقاومت به آپوپتوز را از طریق بیان پروتئین‌های ضد آپوپتوزی مثل Bcl-2 یا از طریق کاهش بیان یا جهش پروتئین‌های پیش‌برنده آپوپتوز مانند Bax، کسب کنند. بیان Bcl-2 و Bax به وسیله ژن مهارکننده تومور P53 تنظیم می‌شود(۳۰). روش دیگر مهار آپوپتوز در سلول‌های سرطانی، فرار از سیستم ایمنی است. طریق مسیر گرآنزیم B/ پرفورین یا مسیر گیرنده مرگ (Fas) تخریب می‌کنند. برخی سلول‌های توموری برای فرار از انهدام و تخریب توسط سیستم ایمنی، حساسیت گیرنده مرگ (Fas) را به لیگانداش (FasL) که توسط سلول‌های T تولید شده‌اند، کاهش می‌دهند که این امر به روش‌های مختلفی انجام می‌گیرند، از جمله کاهش بیان گیرنده مرگ (Fas) در سطح سلول‌های توموری، بیان گیرنده مرگ خاموش، ترشح میزان بالایی از فرم محلول گیرنده مرگ که لیگاند Fas را در بر می‌گیرد یا بیان لیگاند Fas در سطح سلول‌های توموری(۳۲).

برخی هورمون‌ها نظیر کورتیکواستروئیدها به مرگ آپوپتوتیک در برخی از سلول‌ها مثل تیموسیت‌ها منجر می‌شوند و این در حالی است که سلول‌های دیگر تحت تاثیر قرار نمی‌گیرند(۳۳). همانند سایر گلوکوکورتیکوئیدها، دگزامتازون گیرنده‌های استروئیدی را هدف قرار داده و فرآیندهای زیستی نظیر متابولیسم پروتئین، گلوکز و التهاب را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

دگزامتازون یک داروی ضد التهابی قوی است و در حوزه‌های درمانی مختلفی نظیر درماتولوژی، هماتولوژی و اندوکرینولوژی استفاده شده است. دگزامتازون از طریق مکانیسم‌های مختلفی نظیر مهار فسفولیپاز A2، ترشح اسید آراشیدونیک از لیپیدهای سلولی و مهار سنتز پروستاگلاندین H2 یا بیان سیکلواکسیژناز-۲، اثر ضدالتهابی خود را اعمال می‌کند(۳۴). همچنین اثر ضد رشد و تکثیری دگزامتازون از طریق افزایش بیان پروتئین p21، مهار فعالیت CDK2 و فسفریلاسیون رتینوبلاستوما، اعمال می‌شود(۳۵).

از آنجا که تا کنون اثر داروی دگزامتازون روی مسیر خارجی و داخلی آپوپتوز در هیچ یک از رده‌های سلولی سرطان کولورکتال بررسی نشده است، بنابراین در تحقیق حاضر اثر ضد رشد و ضد تکثیری این دارو روی رده سلولی HT-29 سرطان کولورکتال انسانی با تکیه بر اثر آن روی بیان ژن‌های مسیر خارجی آپوپتوزی (Fas و Fasl) و بیان ژن‌های مسیر داخلی آپوپتوزی (Bax و Bcl2) بررسی شده است. از نقاط قوت این مطالعه، بررسی اثر دگزامتازون روی بیان ژن‌های مسیر داخلی و خارجی آپوپتوز به طور همزمان در سطح mRNA بوده است. برای مطالعه تکمیلی پیشنهاد می‌شود این مطالعه در سطح پروتئین نیز انجام شود.

## مواد و روش‌ها:

### کشت سلول:

در این مطالعه که از نوع تجربی است، از رده سلولی HT-29 سرطان کولون انسانی استفاده شد که از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. برای کشت رده سلولی HT-29 از محیط RPMI7-1640 (Gibco-UK) غنی شده با ۱۰درصد سرم جنینی گاو (Gibco-UK) (FBS) و ۱درصد مخلوط آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین (Dacell-Iran) استفاده شد. سلول‌ها در انکوباتور با شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۹۵ درصد و ۵ CO2 درصد قرار گرفتند. سلول‌های چسبنده با استفاده از محلول ۰/۲۵ درصد تریپسین-EDTA (Gibco-UK) از کف فلاسک جدا و برای انجام تست‌های مورد نظر استفاده شد.

برای شمارش سلولی و بررسی سلول‌های زنده از آزمون دفع رنگ (Dye exclusion test) و لام هموسیتومتر استفاده و توسط رنگ تریپان بلو (Sigma-US) سنجش شد. محاسبه درصد سلول‌های زنده با استفاده از فرمول زیر انجام شد(۳۶).

۱۰۰ × (کل سلول شمارش شده/ تعداد سلول زنده) = (درصد) Viability، سپس شمارش و تعیین درصد سلول‌ها در هر میلی‌لیتر از رابطه زیر محاسبه شد.

(ضریب رقت) × $۱۰^{۴}$ × تعداد سلول شمارش شده در هر مربع لام هموسیتومتر نئوبار = تعداد سلول درهر میلی‌لیتر

### آماده‌سازی محلول دگزامتازون:

برای تهیه غلظت‌های مختلف دگزامتازون، هشت میلی‌گرم پودر خالص دگزامتازون (SIGMA-USA) در ۱۳ مایکرولیتر حلال آن، DMSO حل شد و محلول با محیط خالص RPMI-1640 به حجم دو میلی‌لیتر رسانده شد و محلول 8mg/2ml به عنوان استوک در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. غلظت‌های مورد نیاز از دگزامتازون به صورت تازه و قبل از انجام هر تست آماده شد. برای رقیق سازی از محیط خالص RPMI-1640 استفاده شد. غلظت حلال در بیشترین غلظت ۵ درصد بود و برای سلول اثر کشندگی به همراه نداشت.

غلظت‌های مختلف دگزامتازون (۰/۱، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومول) آماده و در

1 Tumor necrosis factor
2 Proapoptotic
3 Apoptosis-activating factor-1
4 Apoptosome
5 Inhibitor of apoptosis
7 Roswell park memorial institute



[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-10-31 ]

دمای ۴درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

**بررسی سمیت سلولی با روش MTT:**

سمیت سلولی دگزامتازون با استفاده از تست MTT بررسی شد. تست MTT روشی برای تعیین تعداد سلول‌های زنده در مطالعه‌ها سمیت سلولی است. در این روش سلول‌های زنده با متابولیسم فعال نمک تترازولیم زرد (MTT) با فرمول شیمیایی 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide را به محصول فورمازان بنفش رنگ تبدیل می‌کند و این عمل را به وسیله آنزیم های میتوکندریایی انجام می‌دهند(۳۷). تعداد سلول بهینه شده ۵۰ هزار سلول (۳۸). در سه بازه زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در هر حفره از پلیت ۹۶ حفره انتقال و در محیط RPMI-1640 غنی شده با ۲درصد سرم جنین گاوی کشت داده شدند. سپس غلظت‌های مختلفی از دگزامتازون (۰/۱ تا۱۰۰۰ میکرومول) به سلول‌ها اضافه و در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در انکوباتور با شرایط ۵درصد $CO^2$، رطوبت ۹۵ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قرار گرفت. هر غلظت از دارو در سه چاهک تکرار شد و همچنین آزمایش در حداقل سه تکرار مجزا برای هر زمان انکوباسیون انجام‌شد.

پس از پایان مدت انکوباسیون، به هر چاهک ۱۰۰ ماکرولیتر از محلول MTT (SIGMA-USA) با غلظت 0.5 mg/ml افزوده و پس از چهار ساعت انکوباسیون، ۵۰ ماکرولیتر از DMSO به هر چاهک اضافه و میزان محصول فورازان تولید شده توسط دستگاه الایزا ریدر (Garni Medical Eng. Co., Tehran, Iran) در طول موج ۵۴۶ نانومتر و رفرنس ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. سپس IC50 و درصد بقای سلول‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف دگزامتازون از فرمول زیر محاسبه شد(۳۸).

درصد بقا (درصد): (جذب نوری رنگ تولیدی در سلول‌های تیمار شده / جذب نوری رنگ تولیدی در سلول‌های تیمار نشده) × 100

**استخراج RNA و سنتز cDNA:**

برای استخراج RNA و سنتز cDNA، رده سلولی HT-29 با غلظت ۱۰۰۰ و ۱۰۰ میکرومول دگزامتازون به مدت ۴۸ ساعت تیمار شد. هر غلظت در دو چاهک تکرار و استخراج total RNA با استفاده از محلول RNX-plus (sinaclon ,Cat. No. RN7713C, Iran) طبق پروتکل ارائه شده توسط کمپانی، انجام شد. RNA استخراج شده در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. برای بررسی‌های کمی RNA استخراج شده از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. OD ۲۸۰/۲۶۰ میزان جذب DNA/ protein است که عدد به‌دست آمده باید بین ۲-۱/۸ باشد. غلظت ۲۰۰۰ نانو گرم از total RNA برای سنتز cDNA استفاده و واکنش RT-PCR با استفاده از کیت سنتز cDNA (yektatajhiz; Cat. No. YT4500) انجام شد. مواد مورد نیاز برای سنتز cDNA در جدول زیر آورده شده است. تیوپ مورد نظر با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر، به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و سپس پنج دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

جدول مواد مورد نیاز برای سنتز cDNA طبق کیت یکتا تجهیز (Cat. No. YT4500)

| نام ترکیب‌ها | حجم مواد |
|---|---|
| 5x first-strand buffer | 4µl |
| dNTPs(10 mM each) | 1µl |
| RNasin (40U/µL) | 0.5 µl |
| M-MLV | 1µL |

بررسی کمی بیان رونوشت ژن‌ها توسط Quantitative real-time RT-PCR (qRT-PCR): برای بررسی کمی بیان رونوشت ژن‌های Bcl-2، Bax، FasL، Fas از quantitative Real-time PCR، و روش سایبرگرین استفاده و در دستگاه Corbett انجام شد. از ژن GAPDH (Housekeeping) به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. هر تیوب شامل ۱۰ ماکرولیتر از مستر میکس 2x Real-time PCR master mix green. no ROX (1X) (Ampliqon- Denmark)، ۰/۵ ماکرولیتر از پرایمر فرادست (10 pmol)، ۰/۵ ماکرولیتر از پرایمر فرودست (10 pmol)(جدول زیر) و هشت ماکرولیتر از آب دیونیزه بود، به طوری که حجم نهایی ۲۰ ماکرولیتر تعیین شد. برنامه زمانی و دمایی برای تکثیر تمامی این ژن‌ها به این ترتیب بود: برای دناتوراسیون و فعال‌سازی آنزیم، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرارگرفتند. سپس دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه انجام شد و برای اتصال پرایمر، طویل سازی و دریافت فلورسنت نمونه‌ها به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. مرحله دناتوراسیون، اتصال پرایمر و طویل‌سازی ۴۰ سیکل تکرار شد.

جدول توالی‌های پرایمرهای استفاده شده برای quantitative Real-time PCR

| نام ژن ها | توالی پرایمر فرادست (′3–5) | توالی پرایمر فرودست (′3–5) | کد ژن |
|---|---|---|---|
| GAPDH | GAAGGTGAAGGTCGGAGTC | GAAGATGGTGATGGGATTTC | NM_001289745.2 |
| Fas | TGCCAAGAAGGGAAGGAGTA | CGGGTGCAGTTTATTTCCAC | XM_011539767.3 |
| FasL | AGCAAATAGGCCACCCCAGTCC | TGGCTCAGGGGCAGGTTGTTG | NM_000639.2 |
| Bax | AACATGGAGCTGCAGAGGAT | CAGTTGAAGTTGCCGTCAGA | XM_017027077.1 |
| Bcl-2 | ATGTGTGTGGAGAGCGTCAA | TCTTCAGAGACAGCCAGGAGA | NM_000633.2 |

**آنالیز آماری:**

پردازش داده‌های Real-Time PCR توسط نرم‌افزار LinReg و REST انجام شد و به روش $\Delta\Delta CT$ 2 محاسبه شد و سطح معنادار آماری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها:

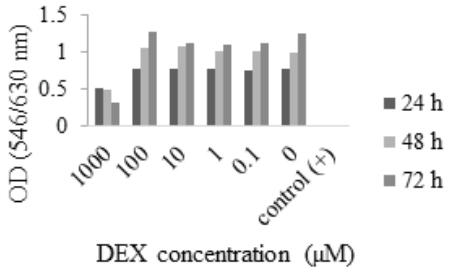
**نتایج حاصل از بررسی سمیت سلولی:**

برای بررسی اثر داروی دگزامتازون روی بقای سلول‌های HT-29 سرطان کولورکتال انسانی، سمیت سلولی بعد از گذشت سه بازه زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از



[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-10-31 ]

تیمار سلول‌ها در محدوده غلظتی ۰/۱ تا ۱۰۰۰ مایکرومول، با روش MTT ارزیابی و با سلول‌های تیمار نشده به عنوان گروه کنترل مقایسه شد. در نمودار ۱ ارتباط بین بقای سلولی با غلظت‌های مختلف دارو نشان داده شده است. نتایج بررسی سمیت سلولی حاکی از آن است که در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده، غلظت ۱۰۰۰ میکرومول از دگزامتازون به کاهش سلول‌های زنده در هر سه بازه زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت منجر شده است. همچنین غلظتی از دارو که منجر به

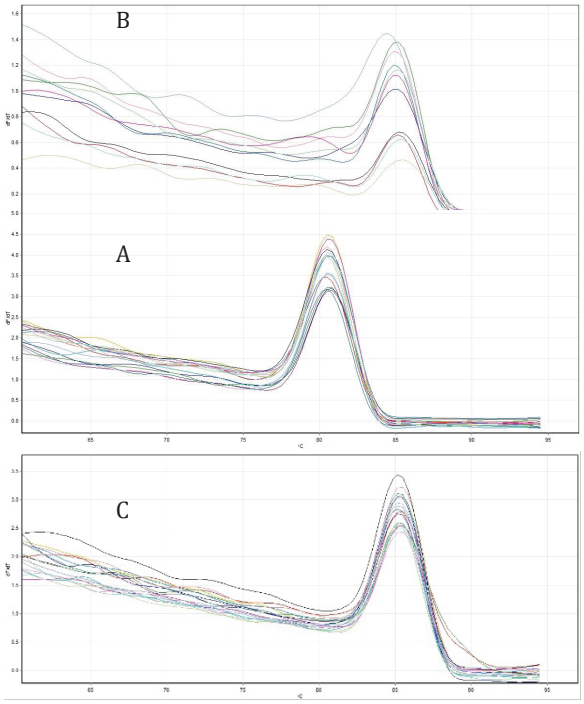


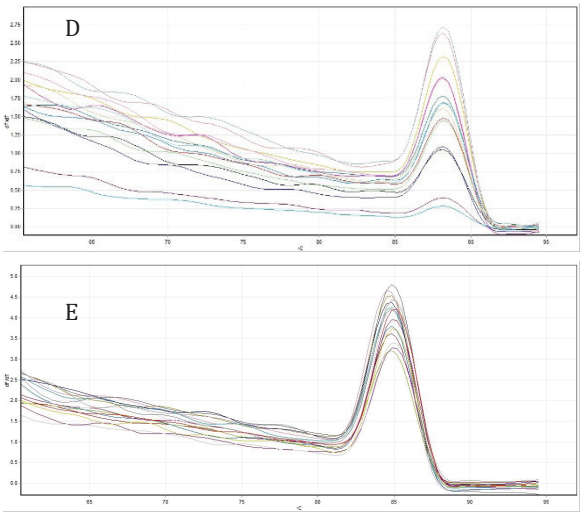

۵۰ درصد مهار رشد شود(IC50) نیز محاسبه شد که غلظت ۱۰۰۰ میکرومول از دگزامتازون بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون است.

نمودار ۱. میزان سمیت سلول‌ها بر غلظت‌ها و به تفکیک زمان پیگیری: سلول‌ها با تعداد بهینه شده برای هر مدت انکوباسیون در حفره‌های پلیت ۹۶ حفره کاشته و با غلظت‌هایی از دگزامتازون که در محور افقی نشان داده شده است، به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون، تحت تیمار قرار گرفتند. کنترل (+) حاوی ۲۰درصد DMSO است و سلول‌ها را وارد فاز مرگ می‌کند. غلظت صفر ($\mu$M) نشان‌دهنده گروه کنترل است و شامل سلول‌هایی است که تحت تیمار قرار نگرفته‌اند. نتایج نشان داد که درصد سلول‌های زنده در تیمار با ۱۰۰۰ میکرومول دگزامتازون، در مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون کاهش یافته است. در سایر غلظت‌ها، کاهش معناداری در درصد سلول‌های زنده مشاهده نشد.

**نتایج حاصل از بررسی کمی بیان رونوشت ژن‌ها توسط qRT-PCR:**

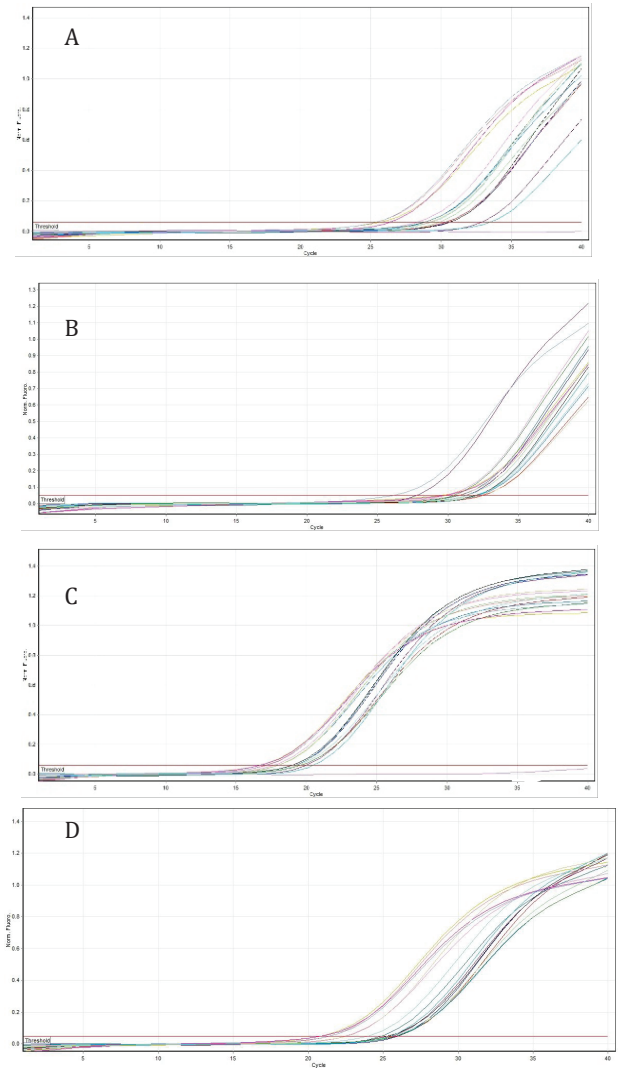
برای اطمینان از عدم حضور پیک‌های غیراختصاصی، نبود ساختارهای ثانویه پرایمر در محصول‌های Real-time PCR و تولید قطعه‌های اختصاصی، منحنی ذوب رسم شد(شکل ۱). نتایج منحنی ذوب نشان داد که پرایمرها به صورت اختصاصی عمل می‌کنند.



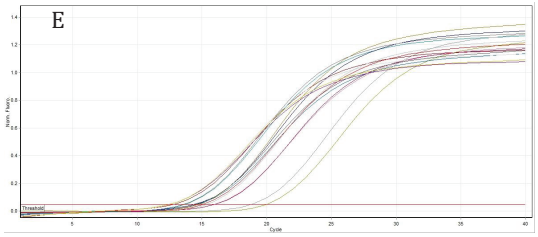




شکل ۱: منحنی ذوب محصول Real-time PCR برای سلول‌های تیمار شده و سلول‌های تیمار نشده. A: ژن B ، Fas: ژن FasL C: ژن D ، Bax: ژن BcL2 و E: ژن خانه‌داری GAPDH

منحنی تکثیر رونوشت ژن های Bcl-2، Bax، FasL، Fas و GAPDH در شکل ۲ آورده شده است، که نشان می‌دهد تکثیر به خوبی انجام شده است.



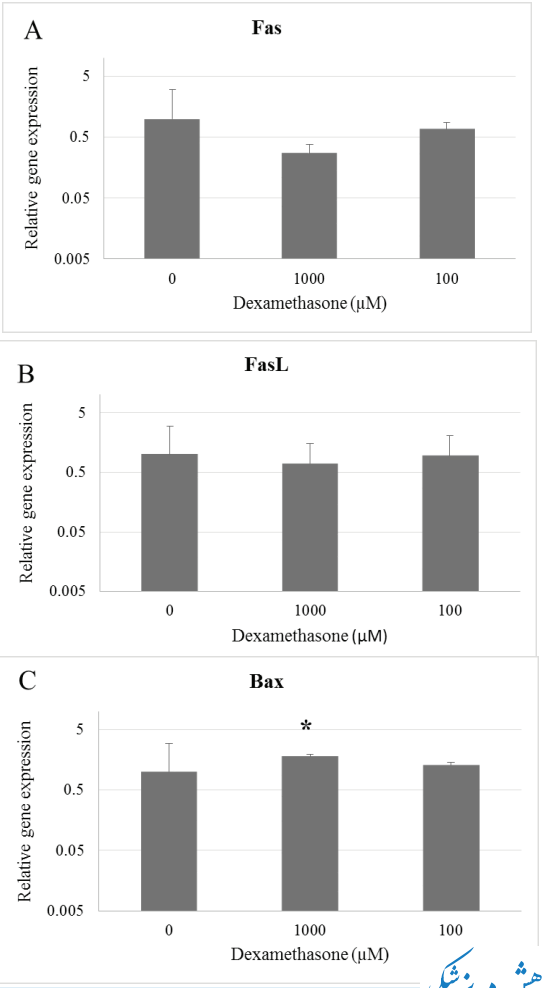

[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-10-31 ]

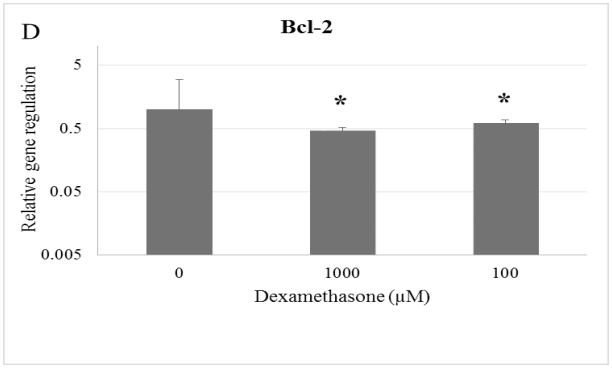



شکل ۲: منحنی تکثیر (Amplification Plot) حاصل از Real-time PCR برای سلول‌های تیمار شده و سلول‌های تیمار نشده. A: رونوشت ژن Fas ، B: رونوشت ژن FasL، C: رونوشت ژن Bax، D: رونوشت ژن BcL-2، E: رونوشت ژن خانه‌داری GAPDH . خط قرمز افقی مربوط به خط حد آستانه است. خط حد آستانه که برای نمونه‌ها توسط دستگاه محاسبه شده است ۶ درصد است.

برای آنالیز داده‌های حاصل از واکنش Real-time PCR، داده‌های take off و منحنی تکثیر مربوط به ژن‌های هدف و ژن خانه داری از برنامه Rotor-Gene 6000 Series software 1.7 استخراج و از نرم افزار REST استفاده شد.

نتایج نشان داد، در سلول‌های تیمار شده با غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۱۰۰ میکرومول دگزامتازون، سطح بیان رونوشت ژن‌های Fas و FasL در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده تغییر معنادار ($p>0.05$) وجود ندارد. در حالی که سطح بیان رونوشت ژن Bcl-۲ در سلول‌های تیمار شده به طور معنادار ($p<0.05$) در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده کاهش یافت. زمانی که دگزامتازون با غلظت ۱۰۰۰ میکرومول استفاده شد، سطح بیان رونوشت ژن Bax در سلول‌های تیمار شده در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده به طور معنادار ($p<0.05$) افزایش یافت(نمودار ۲).




نمودار ۲. نتایج حاصل از بررسی کمی تغییرهای بیان رونوشت ژن‌ها توسط qRT-PCR: رده سلولی HT-29 با غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۱۰۰ میکرومول دگزامتازون به مدت ۴۸ ساعت تیمار شد و تغییرهای بیان رونوشت ژن‌های *Fas*، *FasL*، *Bax* و *Bcl-2* بررسی شد. A. رونوشت ژن Fas :B ، رونوشت ژن *FasL* :C ، رونوشت ژن Bax :D ، رونوشت ژن Bcl-2، غلظت صفر (۰ µM) نشان دهنده گروه کنترل است و شامل سلول‌هایی است که تحت تیمار قرار نگرفته‌اند. (*) نشان‌دهنده تغییر معنادار($p<0.05$) است.

## بحث:

در این تحقیق اثر سمیت سلولی دگزامتازون، در رده سلولی HT-29 سرطان کولورکتال انسانی بررسی شد. سپس به بررسی مکانیسم سمیت سلولی با تکیه بر برخی ژن‌های مهم مسیر داخلی و خارجی آپوپتوز و اثر آن بر القای این سیستم پرداخته شد. به طور قطع ژن‌های بی‌شماری در این مسیر ایفای نقش می‌کنند که در تحقیق حاضر تمرکز روی بیان رونوشت ژن‌های Fas/FasL و Bax/Bcl-2 بوده است.

ابتدا رده سلولی HT-29 با یک طیف غلظتی از دگزامتازون (0.1, 1, 10, 100, 1000 µM)در مدت زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون، تیمار شد. بررسی نتایج حاصل از تست MTT نشان داد، درصد بقای سلول‌های تیمار شده در غلظت ۱۰۰۰ میکرومول و در مدت انکوباسیون ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده، کاهش یافته است اما در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۰، ۱ و ۰/۱ میکرومول ، در مدت انکوباسیون ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، مرگ سلولی مشاهده نشد. غلظت IC50 برای این دارو در مدت ۴۸ ساعت انکوباسیون، غلظت ۱۰۰۰ میکرومول و نشان می‌دهد مرگ سلولی وابسته به دوز و زمان است. موافق با تحقیق ما، Chauhan و همکاران درسال ۲۰۰۱ سیگنالینگ بالادست فعالسازی کاسپاز ۳ توسط دگزامتازون را در مالتیپل میلوما بررسی کردند. سلول S.MM۱ با ۱۰ میکرومول دگزامتازون به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار شد و نتایج نشان داد که آپوپتوز القا شده توسط دگزامتازون در مالتیپل میلوما به واسطه Smac بوده است که با اتصال به XIAP آن را مهار کرده و به فعال‌سازی کاسپاز ۹ منجر می‌شود(۳۹). در سال ۲۰۱۱، Zhengzi و همکاران اثر مهاری داروی دگزامتازون را روی رشد سلول‌های Mino (لنفوبلاست هایی با اختلال‌های سیتوژنتیکی) و سلول‌های به تازگی جدا شده MCL [8] بررسی کرده و نشان دادند که دگزامتازون در تیمار ۷۲ ساعته به صورت وابسته به دوز رشد هر دو سلول را مهار می‌کند. IC۵۰ در سلول‌های Mino، بین ۱ و ۱۰ میکرومول و در سلول‌های MCL بین یک درصد و ۰/۱ تعیین شد(۴۰). در سال ۲۰۱۰، Gandhi و همکاران اثر مهاری دگزامتازون روی رشد رده‌های سلولی plasma cell leukemia و مولتیپل میلوما را بررسی کردند. این سلول ها به مدت ۷۲ ساعت با دامنه غلظتی ۰/۴ تا ۰/۰۰۰۰۹۸ میکرومول دگزامتازون تیمار شدند. نتایج نشان داد که دگزامتازون به مهار رشد در سلول‌ها منجر می‌شود. همچنین

8 Mantle cell lymphoma



[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-10-31 ]

رده‌های سلولی میلوما با غلظت ۸۰۰ نانومولار دگزامتازون به مدت شش ساعت و ۲۴ ساعت تیمار و به افزایش بیان مهارکننده تومور p21 منجر شد. برای شناخت مکانیسم مهار رشد توسط دگزامتازون، چرخه سلولی بررسی شد و نتایج نشان داد که تیمار رده‌های سلولی میلوما با غلظت ۰/۸ یا یک میکرومول دگزامتازون به مدت ۷۲ ساعت به توقف سلول‌ها در G۱/G۰ منجر شد(۴۱).

در تحقیق حاضر، پس از تیمار سلول‌ها در غلظت $IC_{50}$ دگزامتازون، سطح بیان رونوشت ژن‌های Fas و FasL در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده تغییر معنادار ($p<0.05$) مشاهده نشد. در سلول‌های سرطانی کاهش بیان ژن‌های Fas و برعکس افزایش بیان ژن FasL گزارش شده است، بنابراین در این تحقیق انتظار می‌رفت که پس از تیمار، بیان رونوشت ژن Fas افزایش و برعکس بیان رونوشت ژن FasL کاهش یابد، ولی با نتایج حاصل از این تحقیق، دگزامتازون بر روی تغییر بیان رونوشت ژن های Fas FasL/ مسیر خارجی آپوپتوز بی تاثیر بود.

ژن های Fas/FasL مسیرهای خارجی همچنین پس از تیمار سلول‌ها در غلظت $IC_{50}$ دگزامتازون، انتظار می‌رفت که دگزامتازون بیان رونوشت ژن‌های Bax/Bcl-2 مسیر داخلی آپوپتوز را در راستا القا آپوپتوز تغییر دهد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که به طور معنادار ($p<0.05$) در غلظت ۱۰۰۰ میکرومول سطح بیان رونوشت ژن‌های Bax و Bcl-2 در مقایسه با سلول های تیمار نشده، به ترتیب افزایش و کاهش یافت. همسو با نتایج ما، در سال ۲۰۱۱، Zhengzi و همکارانش اثر دگزامتازون با غلظت ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱میکرومول را روی القای آپوپتوز در سلول‌های Mino بررسی کردند. به این منظور سلول‌ها به مدت ۲ تا ۷ روز تیمار شدند. نتایج نشان داد که دگزامتازون به صورت وابسته به زمان و دوز، آپوپتوز را در کشت‌های بیش از چهار روز القا می‌کند. برای بررسی مکانیسم القای آپوپتوز، سلول‌های MCL (سلول‌های مشتق شده از Mino) با دگزامتازون تیمار و مسیر پیام‌رسانی آپوپتوز با استفاده از آنالیز وسترن بلات بررسی شد. زمانی که سلول‌های Mino به مدت چهار روز با دگزامتازون (۰/۰۱، ۰/۱ و ۱میکرومول) تیمار شدند، شکسته شدن PARP به صورت وابسته به دوز مشاهده شد. زمانی که سلول‌های Mino با غلظت ۰/۱ میکرومول دگزامتازون تیمار شدند ، کاسپاز ۳، ۸، ۹ و پروتئین‌های پروآپوپتوتیک و آنتی‌آپوپتوتیک وابسته به میتوکندری فعال شد(۴۰). در سال ۲۰۱۰، Gandhi و همکاران برای بررسی مسیر پیام‌رسان آپوپتوز القا شده به واسطه دگزامتازون در سلول‌های مالتیپل میلوما، فعال‌سازی مسیرهای کاسپاز را بررسی کردند. به این منظور سلول‌ها به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت با غلظت یک میکرومول دگزامتازون تیمار شدند و نتایج نشان داد که دگزامتازون منجر به فعاسازی کاسپاز ۳ و ۸ در رده‌های سلولی Karpas-620، KMS-12-BM، NCI-H929 و JJN-3 و منجر به فعال‌سازی کاسپاز ۹ در دو رده سلولی JJN-3 و RPMI-8226 شد. همچنین تیمار رده‌های سلولی با غلظت یک میکرومول دگزامتازون به مدت ۷۲ ساعت به القای آپوپتوز منجر شد(۴۱).

## نتیجه گیری:

به نظر می‌رسد مرگ‌ومیر و توقف در رشد رده سلولی HT-29 که تحت تیمار با ۱۰۰۰ میکرومول دگزامتازون به مدت ۴۸ ساعت بوده است، ناشی از القای مسیر داخلی آپوپتوز در این رده سلولی است زیرا سطح بیان رونوشت ژن‌های پروآپوپتوتیک Bax و آنتی‌آپوپتوتیک Bcl-2 به ترتیب افزایش و کاهش بیان را نشان داد که این تغییرهای بیان، در راستای القای آپوپتوز اعمال شده است. بنابراین تیمار رده سلولی HT-29 سرطان کولورکتال انسانی با ۱۰۰۰ میکرومول از دگزامتازون به مدت ۴۸ ساعت می‌تواند بیان ژن‌های دخیل در مسیر داخلی آپوپتوز را در راستای القای آپوپتوز تغییر دهد. یکی از اهداف درمانی، تحریک مسیرها و مکانیسم‌های طبیعی در سلول است که تنظیم‌های تکثیر سلولی را کنترل می‌کند. از آنجا که آپوپتوز از دو مسیر داخلی و خارجی انجام می‌شود، حایز اهمیت است که وقتی دارویی برای درمان انتخاب می‌شود، ژن‌های کدام مسیر را تحت تاثیر قرار می‌دهد. از این‌رو، در تحقیق حاضر برخی ژن‌های هر دو مسیر مطالعه شد و نتایج نشان داد که دگزامتازون به صورت وابسته به دوز و زمان می‌تواند روی بیان ژن‌های مسیر داخلی آپوپتوز تاثیر داشته باشد.

## منابع:


1. Mundade R, Imperiale TF, Prabhu L, Loehrer PJ, Lu T. Genetic pathways, prevention, and treatment of sporadic colorectal cancer. Oncoscience. 2014;1(6):400-406.
2. Dolatkhah R, Somi MH, Bonyadi MJ, Asvadi Kermani I, Farassati F, Dastgiri S. Colorectal cancer in Iran: molecular epidemiology and screening strategies. J Cancer Epidemiol [Internet]. 2015 [cited 2016 Aug 3];2015. Available from: http://www.hindawi.com/journals/jce/2015/643020/abs/
3. Zahran MA, Gamal-Eldeen AM, El-Hussieny EA, Agwa HS. Thalidomide dithiocarbamate and dithioate derivatives induce apoptosis through inhibition of histone deacetylases and induction of caspases. J Genet Eng Biotechnol. 2014;12(1):65–70.
4. Tschopp J, Martinon F, Hofmann K. Apoptosis: silencing the death receptors. Curr Biol. 1999;9(10):R381–R384.
5. Koornstra JJ, De Jong S, Hollema H, de Vries EGE, Kleibeuker JH. Changes in apoptosis during the development of colorectal cancer: a systematic review of the literature. Crit Rev Oncol Hematol. 2003;45(1):37–53.
6. Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. CA Cancer J Clin. 2005;55(3):178–194.
7. Czabotar PE, Lessene G, Strasser A, Adams JM. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. Nat Rev Mol Cell Biol. 2014;15(1):49-63.
8. Adrain C, Martin SJ. The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. Trends Biochem Sci. 2001;26(6):390–397.
9. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. Science. 1998;281(5381):1312–1316.
10. Chinnaiyan AM, Dixit VM. The cell-death machine. Curr Biol. 1996;6(5):555–562.
11. Oberhammer FA, Hochegger K, Fröschl G, Tiefenbacher R, Pavelka M. Chromatin condensation during apoptosis is accompanied by degradation of lamin A+ B, without enhanced activation of cdc2 kinase. J Cell Biol. 1994;126(4):827–837.
12. Lazebnik YA, Kaufmann SH, Desnoyers S, Poirier GG, Earnshaw WC. Cleavage of poly (ADP-ribose) polymerase by a proteinase with properties like ICE. Nature. 1994;371(6495):346-347.
13. Emoto Y, Manome Y, Meinhardt G, Kisaki H, Kharbanda S, Robertson M, et al. Proteolytic activation of protein kinase C delta


[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-10-31 ]

by an ICE-like protease in apoptotic cells. EMBO J. 1995;14(24):6148–6156.
14. Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins—suppressors of apoptosis. Genes Dev. 1999;13(3):239–252.
15. Miller LK. An exegesis of IAPs: salvation and surprises from BIR motifs. Trends Cell Biol. 1999;9(8):323–328.
16. Deveraux QL, Roy N, Stennicke HR, Van Arsdale T, Zhou Q, Srinivasula SM, et al. IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. EMBO J. 1998;17(8):2215–2223.
17. Roy N, Deveraux QL, Takahashi R, Salvesen GS, Reed JC. The c-IAP-1 and c-IAP-2 proteins are direct inhibitors of specific caspases. EMBO J. 1997;16(23):6914–6925.
18. Liu X, Kim CN, Yang J, Jemmerson R, Wang X. Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome c. Cell. 1996;86(1):147–157.
19. Yang J, Liu X, Bhalla K, Kim CN, Ibrado AM, Cai J, et al. Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. Science. 1997;275(5303):1129–1132.
20. Kluck RM, Bossy-Wetzel E, Green DR, Newmeyer DD. The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. Science. 1997;275(5303):1132–1136.
21. Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri ES, et al. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. Cell. 1997;91(4):479–489.
22. Zou H, Li Y, Liu X, Wang X. An APAF-1· cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9. J Biol Chem. 1999;274(17):11549–11556.
23. Chai J, Du C, Wu J-W, Kyin S, Wang X, Shi Y. Structural and biochemical basis of apoptotic activation by Smac/DIABLO. Nature. 2000;406(6798):855-862.
24. Srinivasula SM, Datta P, Fan X-J, Fernandes-Alnemri T, Huang Z, Alnemri ES. Molecular determinants of the caspase-promoting activity of Smac/DIABLO and its role in the death receptor pathway. J Biol Chem. 2000;275(46):36152–36157.
25. Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c–dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. Cell. 2000;102(1):33–42.
26. Verhagen AM, Ekert PG, Pakusch M, Silke J, Connolly LM, Reid GE, et al. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins. cell. 2000;102(1):43–53.
27. Chauhan D, Pandey P, Ogata A, Teoh G, Krett N, Halgren R, et al. Cytochrome c-dependent and-independent induction of apoptosis in multiple myeloma cells. J Biol Chem. 1997;272(48):29995–29997.
28. Chauhan D, Pandey P, Ogata A, Teoh G, Treon S, Urashima M, et al. Dexamethasone induces apoptosis of multiple myeloma cells in a JNK/SAP kinase independent mechanism. Oncogene. 1997;15(7):837-843.
29. Koehler BC, Jäger D, Schulze-Bergkamen H. Targeting cell death signaling in colorectal cancer: current strategies and future perspectives. World J Gastroenterol WJG. 2014;20(8):1923-1934.
30. Miyashita T, Krajewski S, Krajewska M, Wang HG, Lin H-K, Liebermann DA, et al. Tumor suppressor p53 is a regulator of bcl-2 and bax gene expression in vitro and in vivo. Oncogene. 1994;9(6):1799–1805.
31. Smyth MJ, Godfrey DI, Trapani JA. A fresh look at tumor immunosurveillance and immunotherapy. Nat Immunol. 2001;2(4):293–299.
32. Cheng J, Zhou T, Liu C, Shapiro JP, Brauer MJ, Kiefer MC, et al. Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. Science. 1994;263(5154):1759–1762.
33. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicol Pathol. 2007;35(4):495–516.
34. Yao X-L, Cowan MJ, Gladwin MT, Lawrence MM, Angus CW, Shelhamer JH. Dexamethasone alters arachidonate release from human epithelial cells by induction of p11 protein synthesis and inhibition of phospholipase A2 activity. J Biol Chem. 1999;274(24):17202–17208.
35. Cha HH, Cram EJ, Wang EC, Huang AJ, Kasler HG, Firestone GL. Glucocorticoids stimulate p21 gene expression by targeting multiple transcriptional elements within a steroid responsive region of the p21 waf1/cip1 promoter in rat hepatoma cells. J Biol Chem. 1998;273(4):1998-2007.
36. Louis KS, Siegel AC, Levy GA. Comparison of manual versus automated trypan blue dye exclusion method for cell counting. Stoddart MJ (Ed.), Mammalian Cell Viability: Methods and Protocols, Series Methods in Molecular Biology. Springer Protocols, New York; 2011.
37. Abe K, Matsuki N. Measurement of cellular 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction activity and lactate dehydrogenase release using MTT. Neurosci Res. 2000;38(4):325–329.
38. Ghiaghi M, Forouzesh F, Rahimi H. Effect of Sodium Butyrate on LHX1 mRNA Expression as a Transcription Factor of HDAC8 in Human Colorectal Cancer Cell Lines. Avicenna J Med Biotechnol. 2019;11(3).
39. Chauhan D, Hideshima T, Rosen S, Reed JC, Kharbanda S, Anderson KC. Apaf-1/cytochrome c-independent and Smac-dependent induction of apoptosis in multiple myeloma (MM) cells. J Biol Chem. 2001;276(27):24453–24456.
40. Qian Z, Zhang L, Cai Z, Sun L, Wang H, Yi Q, et al. Lenalidomide synergizes with dexamethasone to induce growth arrest and apoptosis of mantle cell lymphoma cells in vitro and in vivo. Leuk Res. 2011;35(3):380–386.
41. K Gandhi A, Kang J, Capone L, Parton A, Wu L, H Zhang L, et al. Dexamethasone synergizes with lenalidomide to inhibit multiple myeloma tumor growth, but reduces lenalidomide-induced immunomodulation of T and NK cell function. Curr Cancer Drug Targets. 2010;10(2):155–167.

[ Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-10-31 ]