

## **The cytotoxic effects of Tolmetin on evaluation of Bax and Bcl2 genes expression level in cervical cancer cells (Hela)**

Noroozi S<sup>1</sup>, Ahmadi R<sup>2</sup>, Pashapour S<sup>3</sup>

1- Department of Genetics, Faculty of Basic Sciences, Eastern Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.

2- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, I.R. Iran.

3- Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.

Received: 2019/08/3 | Accepted: 2020/01/18

### **Abstract:**

**Background:** Tolmetin (C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>) is a non-steroidal anti-inflammatory drug that exerts its effects by inhibiting prostaglandins and mainly used in the treatment of acute and chronic arthritis, osteoarthritis, and arthritis. Studies have shown that Tolmetin has anti-carcinogenic effects on different cancer cells. Due to the limited studies on the apoptotic effects of Tolmetin, the present study aimed to evaluate the cytotoxic effects of Tolmetin on the evaluation of Bax and Bcl2 gene expression levels in cervical cancer cells (Hela).

**Materials and Methods:** In this experimental study, the cervical cancer cells were purchased from Pasteur Institute then randomly divided into control group (non-exposure to Tolmetin) and groups exposed to different concentrations of 0.3, 0.6, 1.25, 2.5, 5 and 10 mg/ml of Tolmetin. The cytotoxic effect of Tolmetin was measured using the MTT assay. Also, using Real-Time PCR, expression of BAX, and BCL2 genes was evaluated. Data were analyzed using one-way ANOVA.

**Results:** The concentrations of 0.3, 0.6, 1.25, 2.5, 5, and 10 mg/ml of Tolmetin resulted in cytotoxic effects on Hela cells. And IC<sub>50</sub> dose of 5 mg/ml of Tolmetin increased the expression of the apoptotic Bax gene more than the anti-apoptotic BCL2 gene.

**Conclusion:** Tolmetin can possibly cause cell death in cervical cancer cells by inducing the Bax gene and the BCL2 anti-apoptosis gene.

**Keywords:** Tolmetin, Apoptosis, Bax gene, BCL2 gene

### **\*Corresponding Author:**

**Email:** drrahmadi@yahoo.com

**Tel:** 0098 912 612 0353

**Fax:** 0098 813 449 4059

Conflict of Interests: *No*

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2020; Vol. 24, No 1, Pages 31-37*

*Please cite this article as:* Noroozi S, Ahmadi R, Pashapour S. The cytotoxic effects of Tolmetin on evaluation of Bax and Bcl2 genes expression level in cervical cancer cells (Hela). *Feyz* 2020; 24(1): 31-7.

# بررسی اثرات سیتوتوکسیک داروی تولمتین بر سطح بیان ژنهای Bax و Bcl2 در سلول-های سرطانی دهانه رحم (Hela)

ساناز نوروزی<sup>۱</sup>، رحیم احمدی<sup>۲\*</sup>، ساناز پاشاپور<sup>۳</sup>

## خلاصه:

**سابقه و هدف:** تولمتین یک داروی ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAID) است که از طریق مهار ساخت پروستاگلاندین اثر خود را اعمال می‌کند و اساساً در درمان آرتریت حاد و مزمن، استئوآرتریت و رماتیسم مفصلی کاربرد دارد. مطالعات نشان داده‌اند که تولمتین دارای اثرات آپوپتوز و ضدسرطانی در سلول‌های سرطانی مختلف می‌باشد. با توجه به این که بررسی‌ها در حیطه اثرات ضدسرطانی تولمتین در سلول‌های سرطانی دهانه رحم بسیار محدود است، این تحقیق با هدف بررسی اثرات سیتوتوکسیک تولمتین بر بیان ژن‌های آپوپتوزی Bax و ضدآپوپتوزی Bcl2 در سلول‌های سرطانی دهانه رحم (Hela) انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق تجربی-آزمایشگاهی، رده سلولی سرطانی دهانه رحم از انستیتو پاستور خریداری شد و به گروه‌های کنترل (عدم مواجهه با دارو) و گروه‌های در معرض تولمتین با دوزهای ۰/۳، ۰/۶، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تقسیم‌بندی شدند. زنده‌مانی سلول‌ها با روش MTT و میزان بیان ژن Bax و Bcl2 با روش RT-PCR اندازه‌گیری و داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه تحلیل شدند.

**نتایج:** نتایج این پژوهش نشان دادند که دوزهای ۰/۳، ۰/۶، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تولمتین همگی دارای اثر سیتوتوکسیک بر سلول‌های دهانه رحم بوده‌اند و نیز دوز IC<sub>50</sub> ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است که باعث افزایش بیشتر بیان ژن آپوپتوزی Bax نسبت به ژن ضدآپوپتوزی BCL2 شده است.

**نتیجه‌گیری:** تولمتین می‌تواند با القای وابسته به ژن Bax و ژن ضدآپوپتوزی BCL2 احتمالاً سبب مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی دهانه رحم شود.

**واژگان کلیدی:** تولمتین، آپوپتوز، ژن Bax، ژن Bcl2

دو ماه‌نامه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیست و چهارم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۹، صفحات ۳۷-۳۱

## مقدمه

بر اساس گزارش سال ۲۰۱۰ سازمان بهداشت جهانی، سالانه حدود یک‌هزار نفر در ایران به سرطان دهانه رحم مبتلا می‌شوند و حدود ۲۰ تا ۲۵ درصد از جمعیت زنان بالای ۱۵ سال در کشور ایران در معرض این سرطان هستند [۴]. سرطان دهانه رحم معمولاً به دنبال تغییرات پیش‌سرطانی در مدتی بیش از ده تا بیست سال پیشرفت می‌کند [۶، ۵]. ضعف سیستم ایمنی به‌ویژه به صورت اکتسابی و مصرف داروهای سرکوب ایمنی، عاملی مستعدکننده در ابتلا به سرطان دهانه رحم است [۷]. نتایج تحقیقات نشان داده‌اند که داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی مثل تولمتین می‌توانند در پیشگیری یا درمان سرطان دهانه رحم مؤثر باشند. تولمتین یک داروی ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAID) است که از طریق مهار ساخت پروستاگلاندین اثر خود را اعمال می‌کند [۸]. مطالعات نشان داده‌اند این دارو که اساساً در درمان آرتریت حاد و مزمن، استئوآرتریت و رماتیسم مفصلی کاربرد دارد، می‌تواند در بهبود سرطان‌های مختلف نیز مؤثر باشد [۱۰، ۹]. گزارش‌ها حاکی از آن است که تولمتین می‌تواند در القای آپوپتوز و بیان ژن‌های Bax و Bcl2 در سلول‌های سرطانی نقش ایفا نماید. ژن Bcl2 به‌عنوان یک پروتئوآنکوژن در سلول‌های ژرمینال در تنظیم فرآیند

سرطان دهانه رحم، گونه‌ای سرطان است که از گردن رحم آغاز می‌شود. این بیماری به‌دلیل رشد غیرطبیعی سلول ایجاد می‌شود و این سلول‌ها می‌توانند در دیگر اعضای بدن نیز گسترش یابند [۲، ۱]. در سراسر دنیا، سرطان دهانه رحم دارای شیوع قابل توجهی است. تقریباً هفتاد درصد از موارد سرطان دهانه رحم در کشورهای در حال توسعه رخ می‌دهد [۳].

۱. گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران
۳. گروه سم‌شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

## \* نشانی نویسنده مسئول:

گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران

تلفن: ۰۹۱۲۶۱۲۰۳۵۳ (درون‌پس: ۰۵۹-۳۴۴۹۴۰۸۱)

پست الکترونیک: drrahmadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۵/۱۲ تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۱۰/۲۸

می‌تواند به‌عنوان اطلاعات بنیادی جهت بررسی‌های کاربردی و کلینیکی مورد توجه قرار گیرد.

### مواد و روش‌ها

#### محلوسازی

داروی مورد استفاده در این پژوهش (تولمتین) به شکل پودر خالص (به‌میزان ۱ گرم از شرکت دارویی فارماشیمی) تهیه شد و غلظت‌های ۰/۳، ۰/۶، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آماده گردید. جهت تعیین غلظت‌ها به ۱ گرم از داروی مورد نظر، ۱۰۰ میکرولیتر محلوس هیدروکسید سدیم اضافه شد. همچنین جهت حل‌شدن بهتر، ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلوس بافر فسفات (PBS) به محلوس افزوده شد. آن‌گاه محلوس به‌وسیله فیلتر سرسرنگی، فیلتر و استریل شد. در ادامه ۹ میلی‌لیتر محیط کشت (DMEM) دارای سرم گاوی جنینی و آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین به محلوس فیلترشده اضافه گردید تا محلوس به حجم ۱۰ میلی‌لیتر برسد.

#### کشت سلول و تیمار سلول‌ها

طی این تحقیق تجربی - آزمایشگاهی، رده سلولی سرطانی دهانه رحم (Hela) از انستیتو پاستور خریداری و به‌صورت منجمد در تانک ازت با دمای ۱۹۶- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در طول این مطالعه، رده سلولی سرطانی دهانه رحم (Hela) به‌طور تصادفی به گروه کنترل (عدم مواجهه با دارو) و گروه‌های تحت‌تأثیر با تولمتین با دوزهای (۰/۳، ۰/۶، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تقسیم‌بندی شدند. میزان زنده‌مانی با روش MTT و میزان بیان ژن Bax و Bcl2 با روش RT-PCR اندازه‌گیری شدند.

#### سنجش MTT (Microculture Tetrazolium Test):

در این راستا جهت سنجش MTT ابتدا با شمارش سلولی با استفاده از تریپان بلو  $1 \times 10^4$  سلول از سلول‌های سرطانی Hela در هر چاهک به‌ترتیب با محیط کشت DMEM (America, GIBCO, Invitrogen) دارای سرم گاوی جنینی و آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین کشت داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت با غلظت‌های ۰/۳، ۰/۶، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تولمتین تیمار شدند. بعد از ۲۴ ساعت مواجهه با تولمتین، محیط رویی خارج گردید و سپس ۸۰ میکرولیتر محیط کشت تازه و ۲۰ میکرولیتر از محلوس MTT (America, GIBCO, Invitrogen) اضافه شد. پس از قرار دادن پلیت‌ها به‌مدت ۴ ساعت در انکوباتور، تخلیه‌ی کامل محیط کشت انجام شد و ۲۰۰ میکرولیتر محلوس دی‌متیل سولفوکساید به هر چاهک

آپتوز سلولی دخالت می‌نماید. این ژن یک ژن ضدآپتوزی می‌باشد و در صورت کاهش میزان بیان آن، فرآیند مرگ برنامه‌ریزی شده سلول شروع می‌شود. از سوی دیگر، پروتئین Bax یا پروتئین x وابسته به Bcl2 پروتئین تنظیم‌کننده آپتوز می‌باشد که با ژن Bax رمزگذاری می‌شود. ژن Bax عضو خانواده ژن Bcl2 بوده، تنظیم‌کننده آپتوز می‌باشد. همچنین افزایش نسبت ژن Bax به ژن Bcl2 در القای آپتوز نقش کلیدی دارد [۱۱-۱۳]. بررسی‌ها نشان می‌دهند داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی یک گروه مهم از داروهای پرمصرف جهان هستند و از میان آن‌ها تولمتین یکی از مهم‌ترین داروهاست که می‌تواند به‌عنوان داروی ضدسرطان مطرح باشد [۱۴، ۱۰]. یافته‌های تحقیقی ثابت کرده‌اند که داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی بر درمان سرطان‌های سیستم تولیدمثلی، به‌ویژه رحم نیز مؤثرند [۱۵]. همان‌طور که مطالعات نشان داد، تعدادی از داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی می‌توانند در القای آپتوز از طریق تغییر سطح بیان ژن‌های Bax و Bcl2 در سرطان‌های مختلف، به‌ویژه سرطان دهانه رحم، اثر قابل‌توجهی داشته باشند. در این راستا، مطالعات نشان داده‌اند تولمتین به‌عنوان یک داروی ضدالتهابی غیراستروئیدی می‌تواند اثر درمانی بر سرطان‌ها، به‌ویژه سرطان‌های دستگاه تولیدمثلی، داشته باشد [۱۵-۱۸]. در مقابل، برخی بررسی‌ها نشان داده‌اند که بعضی از داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی دارای اثرات قابل‌ملاحظه‌ی مهارتی بر سرطان‌ها نمی‌باشند و می‌توانند منجر به ایجاد ضایعات گوارشی شوند و احتمالاً می‌توانند در ایجاد سرطان‌های گوارشی و کبد نقش داشته باشند [۱۶]. همچنین در برخی تحقیقات دیگر مشخص شده بعضی از داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی بر درمان سرطان رحم تأثیری ندارد [۱۷]. در این خصوص نتایج تحقیقات نشان داده‌اند که شماری از داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی بر سرطان‌های دستگاه تولیدمثلی و سرطان دهانه رحم اثر قابل‌توجهی ندارند [۱۹-۲۱]. در مجموع با توجه به گستردگی و شیوع سرطان دهانه رحم در جهان و ایران [۴، ۳] و نیز تحمیل عوارض جسمانی، روانی، بالینی و اقتصادی قابل‌توجه حاصل از ابتلا به سرطان دهانه رحم [۷] در بیماران مبتلا و همچنین نتایج ضدونقیض درخصوص اثرات تولمتین بر سرطان دهانه رحم [۱۸-۲۲، ۱۰] و نیز محدودیت مطالعات قبلی در حوزه اثرات تولمتین بر القای آپتوز در سلول‌های سرطانی دهانه رحم، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات غلظت سیتوتوکسیک تولمتین بر بیان ژن‌های Bax و Bcl2 در سلول‌های سرطانی دهانه رحم اجرا شد و نتایج حاصل از این پژوهش ضمن ارائه یافته‌های جدید

**نتایج**

سنجش MTT (Microculture tetrazolium test): درصد زنده‌مانی سلول‌های سرطانی دهانه رحم در مواجهه با دوزهای ۰/۳، ۰/۶، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تولمتین کاهش معناداری یافت و در این راستا با افزایش غلظت تولمتین، درصد زنده‌مانی نیز دچار کاهش بیشتری شد (نمودار شماره ۱).

بررسی بیان ژن‌های BAX و BCL2:

بیان نسبی ژن BAX و BCL2 در گروه تیمار شده با دوز IC<sub>50</sub> داروی تولمتین دارای افزایش معناداری نسبت به گروه شاهد بود ( $P < 0/01$ ) (نمودارهای ۲ و ۳). از طرفی نسبت بیان ژن BAX به BCL2 برابر ۱/۴ می‌باشد که نسبت به گروه کنترل دارای افزایش معناداری است ( $P < 0/01$ ) (نمودار شماره ۴). در مورد افزایش هر دو ژن باید توجه داشت که هر دو دچار افزایش شده‌اند؛ اما به دلیل القای مرگ‌سلولی افزایش ژن ضد آپوپتوزی BCL2 در مقابله با ژن آپوپتوزی BAX ناتوان بوده و از این جهت مرگ‌سلولی رخ داده است. (نمودار شماره ۴)

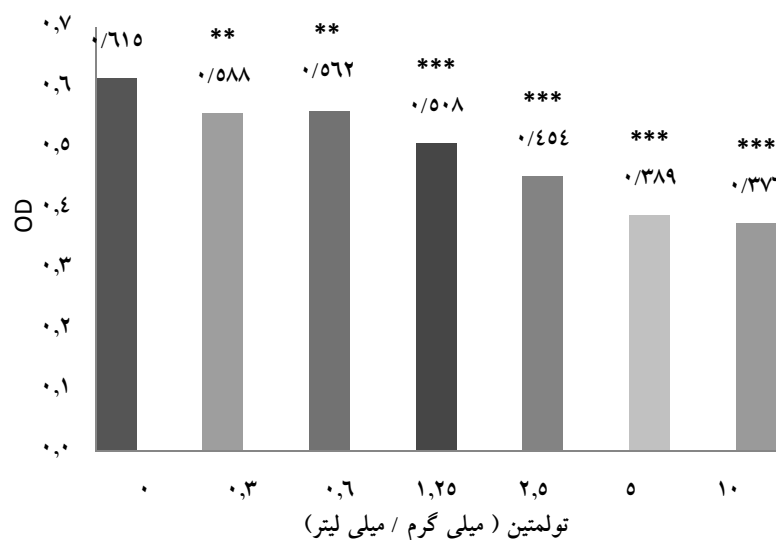
جدول شماره ۱- توالی پرایمرهای ژن‌های Bax و Bcl2

ژن	پرایمر
Bax	Forward: 5'- CGGCAACTTCAACTGGGG - 3'
	Reverse: 5'-TCCAGCCCAACAGCCG-3'
Bcl2	Forward: 5'- GGTGCCGGTTCAGGTACTCA - 3'
	Reverse: 5'- TTGTGCCTTCTTGAGTTCG-3'

اضافه شد. پس از حل شدن کامل کریستال‌های فورمازان ارغوانی توسط حلال دی‌متیل سولفوکساید، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه الایزا سنجیده شد.

بررسی بیان ژن‌های Bax و Bcl2:

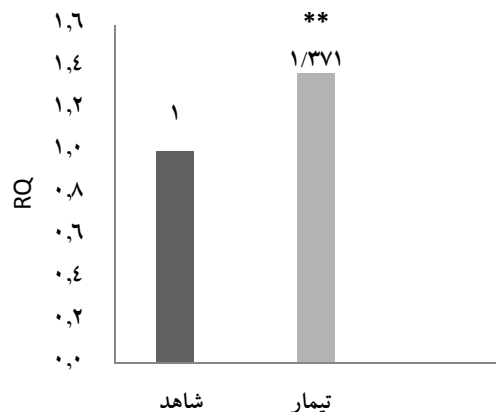
جهت بررسی بیان ژن‌ها از طریق RT-PCR، سلول‌های سرطانی در دیش‌ها به تعداد ۵۰۰۰۰۰ سلول کاشته شدند. سپس سلول‌ها به مدت ۱۲ ساعت انکوبه شدند. پس از آن به مدت ۲۴ ساعت با غلظت‌های سیتوتوکسیک تیمار شدند، در ادامه بعد از انجام عمل سانتریفیوژ، سلول‌ها جمع‌آوری و به وسیله بافر فسفات سالین شستشو داده شدند. RNA توتال با استفاده از کیت مخصوص (Roche, 1828 665, Germany) استخراج گردید. RNA توتال به وسیله کیت استاندارد (Roche, 04 379 012 (Roche, 001, Germany) به cDNA رونویسی معکوس شد. پس از آن جهت ارزیابی بیان ژن از پرایمرهای مخصوص ژن‌های Bax و Bcl2 استفاده گردید جدول شماره ۱ [۲۳]. همچنین مولکول گزارشگر فلوروسنت (سایبرگرین) برای مشاهده پیشرفت PCR به کار رفت. در نهایت، بیان نسبی ژن‌ها با استفاده از فرمول  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS، آزمون کولموگروف - اسمیرنوف (جهت توزیع طبیعی داده‌ها)، آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی تحلیل شدند. سطح معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) در نظر گرفته شد. این پژوهش در معاونت دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان از نظر کد اخلاق مورد بررسی قرار گرفته و تأیید شده است.



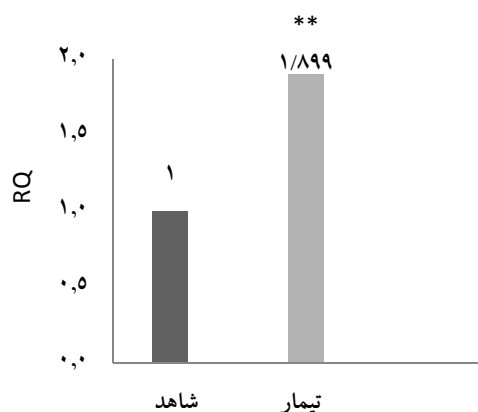
نمودار شماره ۱- مقایسه‌ی اثرات غلظت‌های مختلف داروی تولمتین بر میزان زنده‌مانی رده‌ی سلولی HELA. علامت \* بیانگر مقایسه گروه‌های تجربی با گروه شاهد می‌باشد. ( $P < 0/01$ ), ( $P < 0/001$ ) (\*\*\*)

## بحث

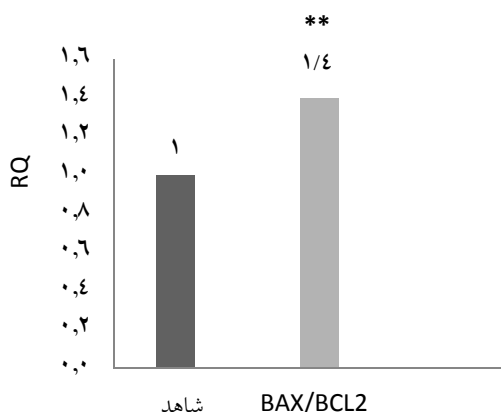
نتایج این تحقیق نشان دادند که دوزهای ۰/۳، ۰/۶، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر تولمتین باعث اثر سیتوتوکسیک بر سلول‌های دهانه رحم می‌شود. از سویی با افزایش دوز تولمتین، اثر سیتوتوکسیک بر سلول‌های دهانه رحم بیشتر می‌گردد. همچنین نتایج این تحقیق بیانگر آن است که تولمتین سبب افزایش بیان ژن وابسته به BAX در سلول‌های سرطانی دهانه رحم می‌شود. موافق با این یافته، نتایج تحقیقات دیگر نیز نشان می‌دهند که تولمتین می‌تواند بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی به‌ویژه سلول‌های سرطانی دهانه رحم تأثیرگذار باشد. در این راستا، بررسی‌ها نشان می‌دهند که تولمتین می‌تواند بر انواع سرطان‌ها اثر سیتوتوکسیک داشته باشد. همچنین تولمتین می‌تواند باعث بیان ژن‌های آپوپتوزی در انواع سرطان‌ها باشد [۲۴، ۱۰]. در مورد افزایش هر دو ژن باید توجه داشت که هر دو دچار افزایش شده‌اند؛ اما به دلیل القای مرگ سلولی، افزایش ژن ضدآپوپتوزی BCL2 در مقابله با ژن آپوپتوزی BAX ناتوان بوده و از این جهت مرگ سلولی رخ داده است. در واقع انواع مختلفی از داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی دارای اثرات ضدسرطانی هستند [۲۵]. در تحقیقات انجام شده مشخص شده است که داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی می‌توانند بر انواع سرطان‌های مختلف از جمله سرطان‌های سینه، مثانه، معده، ریه، تخمدان، کولون و سرطان‌های دستگاه تولیدمثل به‌ویژه سرطان دهانه رحم اثر سیتوتوکسیک داشته باشند [۲۴، ۱۴-۲۱]. در این راستا برخی از داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی می‌توانند سبب القای بیان ژن آپوپتوزی Bax در انواع سرطان‌های مختلف از جمله سرطان‌های معده، ریه، تخمدان، کولون و سرطان‌های دستگاه تولیدمثل شوند [۲۶، ۲۴-۱۴]. اگرچه در مقابل، مطالعاتی گزارش کرده‌اند که بعضی از داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی دارای اثرات قابل‌ملاحظه‌ای بر سرطان‌ها نمی‌باشند. در این خصوص، نتایج تحقیقات نشان داده‌اند که بعضی از داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی بر سرطان‌های دستگاه تولیدمثل به‌ویژه سرطان دهانه رحم مؤثر نمی‌باشند [۱۷-۱۵]. از نظر مکانیسم احتمالی اثر سیتوتوکسیک تولمتین بر آپوپتوز در سلول‌های سرطانی دهانه رحم می‌توان گفت با توجه به مطالعات قبلی [۲۲-۲۴، ۱۴]. احتمالاً تولمتین از طریق مسیرهای میتوکندریایی با اتصال به گیرنده‌های سلول‌های سرطانی رحم اثر خود را اعمال می‌کند [۲۶]. البته به‌منظور بررسی دقیق اثرات غلظت سیتوتوکسیک تولمتین بر آپوپتوز در سلول‌های سرطانی دهانه رحم نیاز به تحقیقات گسترده‌تر به‌ویژه در حوزه بیان پروتئین‌ها و ژن‌های آپوپتوزی دیگر، کاسپازها و COX2 می‌باشد. محدوده مورد



نمودار شماره ۲- اثر داروی تولمتین بر سطح بیان نسبی ژن BCL2 در رده‌ی سلولی HELA. \* بیانگر معناداری نسبت به گروه شاهد است ( $**P < 0.01$ ).



نمودار شماره ۳- اثر داروی تولمتین بر سطح بیان نسبی ژن BAX در رده‌ی سلولی HELA. \* بیانگر معناداری نسبت به گروه شاهد است ( $**P < 0.01$ ).



نمودار شماره ۴- اثر داروی تولمتین بر سطح بیان نسبت ژن BCL2/BAX در رده‌ی سلولی HELA. \* بیانگر معناداری نسبت به گروه شاهد است ( $**P < 0.01$ ).

دهانه رحم می‌باشند و این امر از طریق افزایش بیان ژن آپوپتوتیک وابسته به ژن BAX و ژن ضد آپوپتوتی BCL2 در سلول‌های سرطانی دهانه رحم اجرا می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش با پشتیبانی پژوهانه اختصاص یافته نویسنده مسؤول این مقاله و همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق اجرا شده است.

### References:

[1] Mahmoodi P, Fani M, Rezayi M, Avan A, Pasdar Z, Karimi E, et al. Early detection of cervical cancer based on high-risk HPV DNA-based genosensors: A systematic review. *Biofactors* 2019; 45(2): 101-17.

[2] Koh WJ, Abu-Rustum NR, Bean S, Bradley K, Campos SM, Cho KR, et al. Cervical cancer, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2019; 17(1): 64-84.

[3] Riahi S, Mokhtari AM, Vali M, Abdzadeh E, Mohseni S, Salehiniya H, et al. The incidence and mortality rate of cervix cancer in Iran from 1990 to 2016: A systematic review and meta-analysis Running title: Cervix cancer in Iran. *J Contemp Med Sci* 2019; 5(1): 315-20.

[4] Taib S, Ismail N, Mat SN, Shah SA. A Systematic review on factors associated with cervical cancer screening among immigrant women. *Int J Pub Hea Cli Sci* 2019; 6(1): 22-33.

[5] Sekhon S, Kuroki L, Colditz G. Do cancer survivors understand their risk factors for recurrence and the value of coordinated care between an oncologist and a primary care physician? A survey of endometrial and cervical cancer patients. *J Clin Transl Sci* 2019; 3(1): 121-7.

[6] Fokdal L, Tanderup K, Pötter R, Sturdza A, Kirchheiner K, Chargari C, et al. Risk Factors for Ureteral Stricture After Radiochemotherapy Including Image Guided Adaptive Brachytherapy in Cervical Cancer: Results From the EMBRACE Studies. *Int J Rad Onc Bio Phy* 2019; 103(4): 887-94.

[7] Wu J, Ye T, Lv J, He Z, Zhu J. Laparoscopic nerve-sparing radical hysterectomy vs laparoscopic radical hysterectomy in cervical cancer: a systematic review and meta-analysis of clinical efficacy and bladder dysfunction. *J Min Inv Gyn* 2019; 26(3): 417-26. e6.

[8] Prasher P, Mudila H, Sharma M, Khati B. Developmental perspectives of the drugs targeting enzyme-instigated inflammation: a mini review. *Med Chem Res* 2019; 28(4): 417-49.

[9] Jenkins R, Hibberd M. Novel pharmaceutical uses. *Google Patents* 2019; 20(2): 312-316

مطالعاتی این تحقیق، تنها در حیطه بررسی اثرات غلظت - سیتوتوکسیک تولمتین بر بیان ژن‌های Bax و BCL2 در سلول‌های سرطانی دهانه رحم در محیط کشت سلولی می‌باشد. محققان این پژوهش امیدوارند در آینده امکان بررسی اثرات تولمتین بر بیان پروتئین‌ها و ژن‌های آپوپتوتی دیگر و کاسپازها امکان‌پذیر گردد.

### نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج این پژوهش نشان دادند که غلظت‌های مختلف تولمتین دارای اثر سیتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی

[10] Küçükgülzel ŞG, Koç D, Çıkla-Süzgün P, Özsvacı D, Bingöl-Özakpınar Ö, Mega-Tiber P, et al. Synthesis of Tolmetin Hydrazide-Hydrazones and Discovery of a Potent Apoptosis Inducer in Colon Cancer Cells. *Archiv Der Pharmazie* 2015; 348(10): 730-42.

[11] Dangi AK, Sinha R, Dwivedi S, GUPTA SK, Shukla PS. Cell line techniques and gene editing tools for antibody production: A review. *Front Pharmacol* 2018; 26(9): 630.

[12] Liu T, Liang H, Liu L, Gong Y, Ding Y, Liao G, et al. Influence of pristine and hydrophobic ZnO nanoparticles on cytotoxicity and endoplasmic reticulum (ER) stress-autophagy-apoptosis gene expression in A549-macrophage co-culture. *Ecotoxicol Environ Saf* 2019; 167(1): 188-95.

[13] Schuetz JM, Grundy A, Lee DG, Lai AS, Kobayashi LC, Richardson H, et al. Genetic variants in genes related to inflammation, apoptosis and autophagy in breast cancer risk. *PloS one* 2019; 14(1): 812-6.

[14] Ghosh AK. Anti-cancer agents and preparation thereof. *Google Patents* 2019; 12(6): 314-18.

[15] La CV, Tavani A, Garattini S. Adverse effects of preventive therapy in humans. *IARC Sci Publ* 1996(139): 135-42.

[16] Tomisato W, Tanaka K-i, Katsu T, Kakuta H, Sasaki K, Tsutsumi S, et al. Membrane permeabilization by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Biochem Biophys Res Commu* 2004; 323(3): 1032-9.

[17] Neill AS, Nagle CM, Protani MM, Obermair A, Spurdle AB, Webb PM, et al. Aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, paracetamol and risk of endometrial cancer: A case-control study, systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer* 2013; 132(5): 1146-55.

[18] Seely D, Wu P, Fritz H, Kennedy DA, Tsui T, Seely AJ, et al. Melatonin as adjuvant cancer care with and without chemotherapy: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Integr Cancer Ther* 2012; 11(4): 293-303.

- [19] Grabosch SM, Shariff OM, Wulff JL, Helm CW. Non-steroidal anti-inflammatory agents to induce regression and prevent the progression of cervical intraepithelial neoplasia. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; 10(4): 2015-220.
- [20] Fong W, To KK. Drug repurposing to overcome resistance to various therapies for colorectal cancer. *Cell Mol Life Sci* 2019; 20(6): 1-24.
- [21] Wong RS. Role of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) in Cancer Prevention and Cancer Promotion. *Adv Pharmacol Sci* 2019; 32(6): 1-9.
- [22] Qi L, Ye J, Xue W, Tian X, Zhang H. The mechanism of aspirin combined with metformin induced apoptosis of thyroid cancer TPC-1 cells. *Chi jou onc* 2019; 41(4): 276-81.
- [23] Bigdeli R, Shahnazari M, Panahnejad E, Cohan RA, Dashbolaghi A, Asgary V. Cytotoxic and apoptotic properties of silver chloride nanoparticles synthesized using *Escherichia coli* cell-free supernatant on human breast cancer MCF 7 cell line. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2019; 47(1): 1603-9.
- [24] Rong Z, Xu Y, Zhang C, Xiang D, Li X, Liu D. Evaluation of intestinal absorption of amtolmetin guacyl in rats: breast cancer resistant protein as a primary barrier of oral bioavailability. *Life Sci* 2013; 92(3): 245-51.
- [25] Bellosillo B, Piqué M, Barragán M, Castaño E, Villamor N, Colomer D, et al. Aspirin and salicylate induce apoptosis and activation of caspases in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. *Blood* 1998; 92(4): 1406-14.
- [26] He Q, Luo X, Huang Y, Sheikh MS. Apo2L/TRAIL differentially modulates the apoptotic effects of sulindac and a COX-2 selective non-steroidal anti-inflammatory agent in Bax-deficient cells. *Oncogene* 2002; 21(39): 6032-26.