ResearchGate

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: https://www.researchgate.net/publication/320563601

A comparison of Thiazolyl blue (MTT) versus Sulforhodamine B (SRB) assay in assessment of antiproliferation effect of...

Article *in* Journal of Isfahan Medical School · October 2017

CITATIONS
0

READS
14

5 authors, including:

Daryoush Shahbazi-Gahrouei
Isfahan University of Medical Sciences
188 PUBLICATIONS **686** CITATIONS
SEE PROFILE

Fatemeh Amini Chermahini
Shahrekord University of Medical Sciences
2 PUBLICATIONS **0** CITATIONS
SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:

Project Nonionizing radiation View project

Project radiosensivity View project

All content following this page was uploaded by Daryoush Shahbazi-Gahrouei on 23 October 2017.

The user has requested enhancement of the downloaded file.

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و پنجم/شماره‌ی ٤٤٣/هفته‌ی سوم مهر ماه ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۴/۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۱۲

مقایسه‌ی روش‌های سنجش Thiazolyl Blue (MTT) و Sulforhodamine B (SRB) در تعیین اثر ضد تکثیری برومیلین بر رده‌ی سلول‌های سرطانی 4T1، AGS و PC3

فرزانه رئیسی[۱]، الهام رئیسی[۲]، داریوش شهبازی گهرویی[۳]، اسفندیار حیدریان[۴]، فاطمه امینی[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: همه‌ی عوامل طبیعی ضد سرطانی، به طور اساسی سیتوتوکسیک هستند و اغلب به صورت مهار تکثیر سلولی عمل می‌کنند، اما مکانیزم‌های مختلفی دارند. از دو روش سنجش Thiazolyl blue [MTT یا 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-terazoliumbromide] و Sulforhodamine B (SRB) برای ارزیابی رشد سلول‌ها استفاده می‌شود. هدف از انجام این مطالعه، مقایسه‌ی روش‌های سنجش MTT و SRB برای بررسی اثر سیتوتوکسیک دارو بر روی رده‌های سلول‌های سرطانی بود.

روش‌ها: رده‌ی سلولی سرطان پستان موش (4T1)، سرطان معده‌ی انسانی (AGS) و سرطان پروستات انسانی (PC3) با غلظت‌های متفاوت بروميلين و در زمان‌های متفاوت در انکوباتور نگهداری شدند. به منظور بررسی اثر بروميلين بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی مورد مطالعه، روش‌های سنجش MTT و SRB به کار برده شد. نتایج گروه‌های مورد مطالعه با استفاده از آزمون‌های غیر پارامتریک Kruskal-Wallis و آزمون تکمیلی Dunn مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته‌ها: رشد و بقای سلول‌های 4T1، AGS و PC3 در غلظت‌های مختلف بروميلين و زمان‌های متفاوت انکوباسیون، کاهش یافت. هر دو روش سنجش MTT و SRB، به صورت مشابهی کاهش بقای سلول‌های سرطانی، صرف نظر از نوع و فنوتیپ، را بعد از درمان با بروميلين نشان دادند.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های این مطالعه، روش‌های سنجش MTT و SRB به طور قابل قبولی اثرات ضد تکثیری بروميلين بر روی سلول‌های سرطانی مورد مطالعه را نشان دادند.

واژگان کلیدی: بروميلين، سلول سرطانی، تکثیر سلولی، Thiazolyl blue، Sulforhodamine B

ارجاع: رئیسی فرزانه، رئیسی الهام، شهبازی گهرویی داریوش، حیدریان اسفندیار، امینی فاطمه. **مقایسه‌ی روش‌های سنجش Thiazolyl Blue (MTT) و Sulforhodamine B (SRB) در تعیین اثر ضد تکثیری بروميلين بر رده‌ی سلول‌های سرطانی 4T1، AGS و PC3.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۳): ۱۰۶۱-۱۰۵۶

مقدمه

در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه، سرطان یکی از سه علت شایع مرگ و میر است. درمان سرطان شامل جراحی، پرتودرمانی، شیمی‌درمانی و اغلب ترکیبی از دو یا هر سه می‌باشد (۱). شیمی‌درمانی، عوارض جانبی بسیاری دارد. رایج‌ترین عوارض جانبی ناشی از شیمی‌درمانی، نوتروپنی، ورم دهان، موکوزیت، اسهال و استفراغ هستند (۲). در نتیجه، بخش قابل توجهی از کشف دارو در ۴۰ سال گذشته، بر عوامل پیش‌گیری کننده و یا درمان سرطان متمرکز شده است (۱).

در این راستا، بروميلين یکی از این عوامل طبیعی می‌باشد. بروميلين، نام عمومی خانواده‌ی آنزیم‌های پروتئولیتیک سولفیدریل به دست آمده از آناناس است و در بیماری‌های قلبی، آرتریت روماتوئید،

۱- پژوهشگر، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، پژوهشکده‌ی علوم پایه‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲- استادیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، پژوهشکده‌ی علوم پایه‌ی سلامت و گروه فیزیک پزشکی و پرتوشناسی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳- استاد، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- استاد، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، پژوهشکده‌ی علوم پایه‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۵- دانشجوی کارشناسی ارشد، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: الهام رئیسی
Email: raeisi.e@skums.ac.ir

سینوزیت، صدمات جراحی و دبریدمان زخم مفید است (۳). بروملین، خواص ضد التهاب، ضد ترومبوز و ضد سرطان دارد (۴). بروملین، به خوبی در بدن پس از تجویز خوراکی بدون هیچ عوارض جانبی حتی پس از استفاده‌ی طولانی مدت جذب می‌شود (۵).

بر اساس مطالعات سلولی، حیوانی و بالینی متعددی، بروملین به تنهایی و یا در ترکیب با داروهای دیگر، رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی مختلفی نظیر پستان، ملانوما، سارکوما، معده و کولون را مختل می‌کند (۹-۶).

همه‌ی عوامل طبیعی، به خودی خود سمیت سلولی دارند و اغلب به صورت مهار تکثیر سلولی، اما با مکانیسم‌های مختلف عمل می‌کنند (۱). دو روش معمول ارزیابی فعالیت سمیت سلولی شامل Thiazolyl blue [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-terazoliumbromide یا MTT] و Sulphorhodamine B (SRB) می‌باشد (۱).

روش MTT اولین بار در سال ۱۹۸۶، روش آنزیماتیک به عنوان سوبسترای واکنش از نمک‌های محلول تترازولیوم معرفی شد (۱۰). اساس این روش، شکستن نمک MTT توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های زنده است. نتیجه‌ی این فعالیت، ایجاد بلورهای نامحلول فورمازان ارغوانی رنگ است که توسط دی‌متیل سولفوکساید (Dimethyl sulfoxide یا DMSO) به صورت محلول در می‌آیند. هر چه سلول‌ها فعال‌تر و تعدادشان بیشتر باشد، میزان رنگ ایجاد شده بیشتر است. جذب نوری رنگ ارغوانی ظاهر شده در طول موج ۵۴۰-۴۹۰ نانومتر با استفاده از روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) اندازه‌گیری می‌شود (۱۱). از محدودیت‌های MTT زمان مورد نیاز برای انکوباسیون و رابطه‌ی غیر خطی بین جذب نوری و تعداد سلول می‌باشد (۱۳-۱۲).

روش دوم ارزیابی سمیت سلولی، SRB می‌باشد که حساسیت بالاتر و رابطه‌ی خطی بیشتری با تعداد سلول دارد و میزان رنگ‌آمیزی آن، مستقل از تعداد سلول می‌باشد (۱۴، ۱). SRB متکی به جذب بار منفی رنگ صورتی Aminoxanthine، SRB توسط اسیدهای آمینه‌ی اساسی در سلول است. هر چه تعداد سلول بیشتر باشد، مقدار رنگ ایجاد شده بیشتر است و پس از تثبیت شدن، زمانی که سلول‌ها تجزیه می‌شوند، رنگ منتشر شده شدیدتر می‌شود و بیشتر جذب می‌دهد (۱۴). سنجش SRB حساس، ساده، قابل تکرار و سریع‌تر از سنجش با اساس Formazan و سیگنال به نویز خطی است (۱۵).

با توجه به محدودیت‌های MTT و مزایای SRB، مطالعات بیشتری به منظور مقایسه‌ی بیشتر این دو روش وجود دارد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر ضد تکثیری بروملین بر روی سلول‌های سرطانی پستان (4T1)، معده (AGS) و پروستات (PC3) با روش‌های سنجش MTT و SRB بود.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی، رده‌ی سلول‌های سرطانی 4T1، AGS و PC3 از انستیتو پاستور ایران و تریپسین ۰/۲۵ درصد، محیط کشت Roswell Park Memorial Institute-1640 (RPMI-1640)، Fetal bovine serum (FBS) و قرص Phosphate buffer saline (PBS) (Gibco)، Sulforhodamine B (SRB)، Trichloroacetic acid (TCA)، Acid acetic و Aminomethane (hydroxymethyl) (Tris، آمریکا) و بروملین (Merck, Germany) و Dimethyl sulfoxide (DMSO) و MTT (Sigma، آمریکا) از شرکت خریداری شدند.

بروملین در محیط کشت حل شد تا غلظت‌های مناسب برای مطالعه آماده گردد. محیط مورد نیاز برای سلول‌های سرطانی، با اضافه کردن ۱ درصد محلول آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین/استرپتومایسین و ۱۰ درصد FBS به RPMI-1640 تهیه شد. سلول‌های سرطانی، در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و CO_2 ۵ درصد انکوبه شدند. اثر بروملین بر رشد و تکثیر سلول‌های 4T1، AGS و PC3 با روش‌های سنجش MTT و SRBبررسی شد. در هر دو روش، تعداد $۱۰^۳ \times ۵$ سلول در ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه با غلظت‌های متفاوت بروملین ۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر در زمان‌های متفاوت ۲۴ و ۴۸ ساعت درمان شدند.

در روش SRB، بعد از درمان، Trichloroacetic acid (TCA) اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس، ۵ بار با آب شستشو داده شد. بعد از خشک شدن، محلول Sulforhodamine B ۰/۴ درصد حل شده در Acid acetic ۱ درصد اضافه شد. سپس، ۵ بار با Acid acetic ۱ درصد شستشو داده شد و بعد از خشک شدن و اضافه کردن Tris ۱۰ میلی‌مولار جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه ELISA (Stat Fax-2100, Spain) در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در روش MTT، بعد از اتمام درمان، ۲۰۰ میکرولیتر محلول MTT (در غلظت ۱۲ میلی‌مولار) اضافه شده به هر چاهک، ۴ ساعت انکوبه شد. آن گاه، ۲۰۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفواکساید اضافه شد و بعد از ۲۰ دقیقه انکوباسیون، جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه ELISA (Stat Fax-2100, Spain) در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید.

منحنی درصد بقای سلول‌ها در غلظت‌های متفاوت بروملین بر اساس محاسبات توسط فرمول ۱۰۰ × (جذب نوری گروه شاهد/جذب نوری گروه درمانی) = درصد بقای سلول‌ها رسم

شـــد. درصـــد زیســـت‌پـــذیری ســـلول‌هـــای ســـرطانی (Half-maximal inhibitory concentration یـا IC50 معـادل غلظت بروملین منجر به مهار ۵۰ درصد سلول‌های تحت درمانی) بـر اساس منحنی رسم شده تعیین گردید.

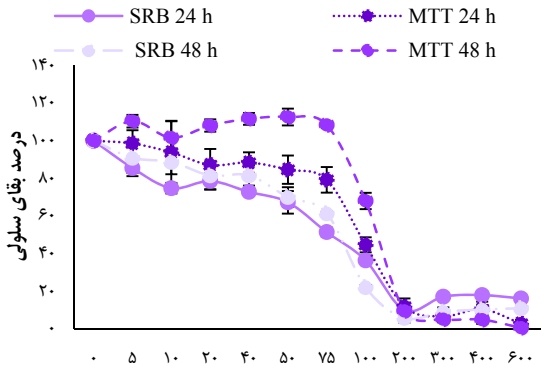
پـردازش داده‌هـا بـا اسـتفاده از نـرم‌افـزار Prism graphpad (version 5, GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA)، بعد از تکرار سه بار تمام آزمایش‌ها انجام شد. نتایج گروه‌های مورد مطالعـه با استفاده از آزمون‌های غیـر پارامتریـک Kruskal-Wallis و آزمـون تکمیلی Dunn انجام گرفت.

شاخص‌های آماری شامل میانگین داده‌هـا و انحـراف معیارهـای آن‌ها به صورت میانگین و انحراف معیـار نمـایش داده شـد و سـطح معنی‌داری در $P < ۰/۰۵۰$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

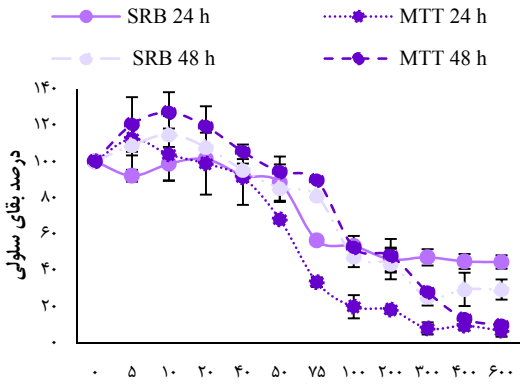
سلول‌های سرطانی پستان (4T1)، معده (AGS) و پروسـتات (PC3) در زمـان‌هـای ۲۴ و ۴۸ سـاعت بـا غلظـت‌هـای مختـلف بـروملین انکوباسیون شدند. مقدار درصد بقای سـلول‌هـا بـا اسـتفاده از میـزان چگـالی نـوری خوانـده شـده بعـد از انجـام آزمـون MTT و SRB اندازه‌گیری شد.

نتایج به صورت درصد بقای سلول‌ها بر حسب غلظت‌هـای متفـاوت بروملین به صورت میکروگرم/میلی‌لیتر و آزمون‌های مختلـف MTT و SRB و زمـــان‌هـــای متفـــاوت انکوباســـیون ۲۴ و ۴۸ ســـاعت درسلول‌های مختلف 4T1، AGS و PC3 در شـکل‌هـای ۳-۱ نشـان داده شدند.



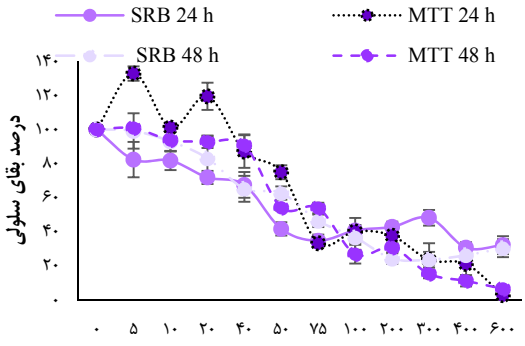
شکل ۱. مقایسه‌ی بین تغییرات درصد بقای سلول‌های 4T1 بر حسب غلظت‌های متفاوت بروملین بین روش‌های 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-terazoliumbromide (MTT) و Sulforhodamine B (SRB) در زمان‌های انکوباسیون ۲۴ و ۴۸ ساعت (۹)

مقدار درصد زیست‌پذیری بروملین بر روی سلول‌های سـرطانی 4T1، در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون با استفاده از روش‌هـای MTT و SRB به ترتیب ۱۰۰ و ۶۵ میکروگرم/میلی‌لیتر و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون ۱۲۰ و ۸۵ میکروگرم/میلی‌لیتر به دست آمد.



شکل ۲. مقایسه‌ی بین تغییرات درصد بقای سلول‌های AGS بر حسب غلظت‌های متفاوت بروملین بین روش‌های 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-terazoliumbromide (MTT) و Sulforhodamine B (SRB) در زمان‌های انکوباسیون ۲۴ و ۴۸ ساعت

در سـلول‌هـای سـرطانی AGS، میـزان درصـد زیسـت‌پـذیری بروملین در زمـان ۲۴ سـاعت انکوباسـیون بـا سـتفاده از روش‌هـای MTT و SRB بـه ترتیـب ۶۵ و ۶۵ میکروگرم/میلـی‌لیتـر و پـس از ۴۸ ساعت انکوباسیون ۱۶۰ و ۱۲۵ میکروگرم/میلی‌لیتر بود.



شکل ۳. مقایسه‌ی بین تغییرات درصد بقای سلول‌های PC3 بر حسب غلظت‌های متفاوت بروملین بین روش‌های 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-terazoliumbromide (MTT) و Sulforhodamine B (SRB) در زمان‌های انکوباسیون ۲۴ و ۴۸ ساعت

همچنین، در سلول‌های سرطانی PC3، مقدار درصد زیست‌پذیری بورمیلین نیز در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون با استفاده از روش‌های MTT و SRB به ترتیب ۶۵ و ۴۰ میکروگرم/میلی‌لیتر و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون ۶۵ و ۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر به دست آمد. نتایج مقایسه‌ی مقدار درصد زیست‌پذیری بورمیلین بر روی سلول‌های 4T1، AGS و PC3 نشان داد که بین نتایج آزمون‌های MTT و SRB در هر سه سلول سرطانی و در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > ۰/۰۵۰$).

بحث

هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر ضد تکثیری بورمیلین بر روی سلول‌های سرطانی پستان (4T1)، معده (AGS) و پروستات (PC3) با روش‌های سنجش MTT و SRB بود. روش MTT به طور گسترده برای سنجش سمیت سلولی داروها استفاده شده است. این روش، به عملکرد میتوکندریایی فعال نیاز دارد؛ چرا که از فعالیت آنزیم میتوکندریایی، سوکسینات دهیدروژناز بهره‌گیری می‌کند. بنابراین، روش پیش‌گفته، سلول‌های زنده را تشخیص می‌دهد. نتایج آزمون MTT، ممکن است تحت تأثیر pH و غلظت گلوکز قرار گیرد (۱۲). سنجش SRB به تازگی به عنوان یک روش برای اندازه‌گیری سمیت سلولی داروها گزارش شده است. در این روش، رابطه بین جذب نوری و تعداد سلول خطی برقرار است (۱۶).

مقایسه‌ی بین روش‌های MTT و SRB در تعدادی از مطالعات قبلی انجام شده است. در مطالعه‌ی Banasiak و همکاران، با مقایسه‌ی بین روش‌های MTT و SRB بعد از پرتودهی ۶ رده از سلول‌های سرطانی مثانه، دریافتند که نتایج MTT و SRB تفاوت بسیار کمی با هم داشتند. همچنین، هر دو روش برای تعیین حساسیت پرتویی در بازده کشت پایین، پیشنهاد شده‌اند (۱۲). در مطالعه‌ی Wu، و همکاران مقایسه‌ای بین روش‌های MTT و SRB به منظور بررسی اثر ضد توموری ویتامین‌های k_1، k_2 و k_3 بر ۱۵ رده‌ی سلول سرطانی مختلف انجام شد. در این مطالعه، نتایج MTT و SRB مشابه بودند (۱۶). Griffon و همکاران، سنجش‌های MTT و SRB پس از پرتودهی ۶ رده‌ی سلول سرطانی تخمدان را مقایسه و بررسی کردند و اختلاف معنی‌داری بین نتایج MTT و SRB مشاهده نکردند (۱۷). Perez و همکاران، اثر سیسپلاتین را بر چندین رده‌ی سلولی تخمدان با روش‌های MTT و SRB بررسی و مقایسه کردند. آن‌ها نشان دادند که نتایج حاصل از مقدار درصد زیست‌پذیری سیسپلاتین در روش SRB در همبستگی خوبی با MTT بوده است. با این وجود، در روش SRB، همبستگی بهتری بین رنگ‌آمیزی و تعداد سلول نسبت به روش MTT وجود دارد (۱۸). van Tonder و همکاران، در مطالعه‌ای با مقایسه‌ی MTT با سه روش سنجش دیگر از جمله SRB، به این نتیجه رسیدند که روش SRB نسبت به MTT در تعیین اثرات سمیت سلولی اولیه، از لحاظ اقتصادی و زمانی مقرون به صرفه‌تر می‌باشد (۱۳).

در مطالعه‌ی قبلی، اثر بورمیلین بر روی سلول‌های سرطانی 4T1 در زمان‌های انکوباسیون ۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از آزمون MTT بررسی گردید (۹). مطالعه‌ی حاضر، مقایسه‌ی بین نتایج روش‌های MTT و SRB حاصل از اثر بورمیلین در سه رده‌ی سلول سرطانی پستان (4T1)، معده (AGS) و پروستات (PC3) در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت را نشان می‌دهد. با توجه به یافته‌های مطالعات حاضر، نتایج حاصل از MTT و SRB مستقل از نوع سلول، مشابه هستند واختلاف معنی‌داری بین نتایج MTT و SRB وجود ندارد. همچنین، یافته‌ها نشان دادند که نتایج MTT و SRB مستقل از زمان، مشابه هستند. نتایج حاصل از این مطالعه، با مطالعه‌ی Banasiak و همکاران (۱۲) در توافق کم، اما با مطالعات Griffon و همکاران (۱۷)، Wu و همکاران (۱۶)، Perez و همکاران (۱۸) و van Tonder و همکاران (۱۳) در توافق بالایی است. در مطالعه‌ی Banasiak و همکاران (۱۲)، به دلیل بالا بودن تعداد سلول‌ها، جذب با روش MTT غیر خطی بوده و این امر، دلیل تفاوت جزیی با نتایج SRB بوده است؛ در صورتی که در مطالعه‌ی حاضر، تعداد سلول‌ها زیاد نبود و در نتیجه، جذب در هر دو روش MTT و SRB به صورت خطی بود و نتایج حاصل از هر دو روش مشابه بودند. با توجه به محدودیت‌های روش MTT و مزایای روش SRB، می‌توان پیش‌بینی کرد که استفاده از روش SRB به منظور بررسی اثر سمیت سلولی و دیگر کاربردها افزایش می‌یابد.

تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از طرح‌های پژوهشی (به شماره‌های ۲۰۷۴ و ۲۲۴۶) مصوب معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد بود و با حمایت مالی این معاونت انجام شد. همچنین، از خانم فاطمه هیبتی، محقق مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، پژوهشکده‌ی علوم پایه‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد که در انجام بخشی از کشت سلول همکاری داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Houghton P, Fang R, Techatanawat I, Steventon G, Hylands PJ, Lee CC. The sulphorhodamine (SRB) assay and other approaches to testing plant extracts and derived compounds for activities related to reputed anticancer activity. Methods 2007; 42(4): 377-87.
2. Hauner K, Maisch P, Retz M. Side effects of chemotherapy. Urologe A 2017; 56(4): 472-9. [In German].
3. Agarwal S, Chaudhary B, Bist R. Bacoside A and bromelain relieve dichlorvos induced changes in oxidative responses in mice serum. Chem Biol Interact 2016; 254: 173-8.
4. Ramli AN, Aznan TN, Illias RM. Bromelain: From production to commercialisation. J Sci Food Agric 2017; 97(5): 1386-95.
5. Pavan R, Jain S, Shraddha, Kumar A. Properties and therapeutic application of bromelain: A review. Biotechnol Res Int 2012; 2012: 976203.
6. Chobotova K, Vernallis AB, Majid FA. Bromelain's activity and potential as an anti-cancer agent: Current evidence and perspectives. Cancer Lett 2010; 290(2): 148-56.
7. Raeisi E, Shahbazi-Gahrouei D, Heidarian E. Pineapple extract as an efficient anticancer agent in treating human cancer cells. Front Cancers 2016; 1(1): e02.
8. Romano B, Fasolino I, Pagano E, Capasso R, Pace S, De Rosa G, et al. The chemopreventive action of bromelain, from pineapple stem (Ananas comosus L.), on colon carcinogenesis is related to antiproliferative and proapoptotic effects. Mol Nutr Food Res 2014; 58(3): 457-65.
9. Raeisi F, Raeisi E, Shahbazi-Gahrouei D, Heidarian E, Amiri M, Gholami M. cytotoxicity effect of pineapple extract on breast cancer cells (4T1). J Isfahan Med Sch 2016; 34(394): 946-51. [In Persian].
10. Voigt W. Sulforhodamine B assay and chemosensitivity. Methods Mol Med 2005; 110: 39-48.
11. Scudiero DA, Shoemaker RH, Paull KD, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, et al. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. Cancer Res 1988; 48(17): 4827-33.
12. Banasiak D, Barnetson AR, Odell RA, Mameghan H, Russell PJ. Comparison between the clonogenic, MTT, and SRB assays for determining radiosensitivity in a panel of human bladder cancer cell lines and a ureteral cell line. Radiat Oncol Investig 1999; 7(2): 77-85.
13. van Tonder A, Joubert AM, Cromarty AD. Limitations of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays. BMC Res Notes 2015; 8: 47.
14. Vichai V, Kirtikara K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. Nat Protoc 2006; 1(3): 1112-6.
15. Haselsberger K, Peterson DC, Thomas DG, Darling JL. Assay of anticancer drugs in tissue culture: Comparison of a tetrazolium-based assay and a protein binding dye assay in short-term cultures derived from human malignant glioma. Anticancer Drugs 1996; 7(3): 331-8.
16. Wu FY, Liao WC, Chang HM. Comparison of antitumor activity of vitamins K1, K2 and K3 on human tumor cells by two (MTT and SRB) cell viability assays. Life Sci 1993; 52(22): 1797-804.
17. Griffon G, Merlin JL, Marchal C. Comparison of sulforhodamine B, tetrazolium and clonogenic assays for in vitro radiosensitivity testing in human ovarian cell lines. Anticancer Drugs 1995; 6(1): 115-23.
18. Perez RP, Godwin AK, Handel LM, Hamilton TC. A comparison of clonogenic, microtetrazolium and sulforhodamine B assays for determination of cisplatin cytotoxicity in human ovarian carcinoma cell lines. Eur J Cancer 1993; 29A(3): 395-9.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 23.06.2017
Vol. 35, No. 443, 3rd Week, October 2017
Accepted: 03.09.2017

A Comparison of Thiazolyl blue (MTT) versus Sulforhodamine B (SRB) Assay in Assessment of Antiproliferative Effect of Bromelain on 4T1, AGS, and PC3 Cancer Cell Lines

Farzaneh Raeisi[1], Elham Raeisi[2], Daryoush Shahbazi-Gahrouei[3], Esfandiar Heidarian[4], Fatemeh Amini[5]

Original Article

Abstract

Background: All natural anticancer agents are cytotoxic basically and act mainly by the inhibition cell proliferation; but they have different mechanisms. Two assays, thiazolyl blue [3- (4, 5-dimethylthiazol-2-yl) -2, 5-diphenyl-terazoliumbromide or MTT] and sulforhodamine B (SRB), are used to assess cell growth. This study aimed to compare measurements between MTT and SRB on the cancer cell lines.

Methods: Different concentrations of the bromelain were added to cultured cells including mouse breast cancer (4T1), human gastric carcinoma (AGS), and human prostate carcinoma (PC3) cell lines and incubated at 24 and 48 hours. The growth and proliferation rates of the studied cells were investigated using both MTT and SRB assays after treatment with bromelain. The differences between cells were determined using Kruskal-Wallis and Dunns tests.

Findings: Bromelain significantly decreased growth and proliferation rate of 4T1, AGS and PC3 cancer cells, in a concentration-dependent manner at different times, in both MTT and SRB assays.

Conclusion: Findings showed that both MTT and SRB assays gained similar data regardless of the cell types.

Keywords: Bromelain, Neoplasms, Cell proliferation, Thiazolyl blue, Sulforhodamine B

Citation: Raeisi F, Raeisi E, Shahbazi-Gahrouei D, Heidarian E, Amini F. **A Comparison of Thiazolyl blue (MTT) versus Sulforhodamine B (SRB) Assay in Assessment of Antiproliferative Effect of Bromelain on 4T1, AGS, and PC3 Cancer Cell Lines.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(443): 1056-61.

1- Researcher, Clinical Biochemistry Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
2- Assistant Professor, Clinical Biochemistry Research Center, Basic Health Sciences Institute AND Department of Medical Physics and Radiology, School of Allied Medical Sciences, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
3- Professor, Department of Medical Physics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Professor, Clinical Biochemistry Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
5- MSc Student, Student Research Committee, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
Corresponding Author: Elham Raeisi, Email: raeisi.e@skums.ac.ir

View publication stats