Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 0:55 IRDT on Thursday September 21st 2017

دانشور پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال هیجدهم– شماره ۹۰
دی ۱۳۸۹

وصول: ۸۹/۶/۲۷
آخرین اصلاحات: ۸۹/۱۰/۲۵
پذیرش: ۸۹/۱۰/۲۶

پاسخ وابسته به دوز و زمان رده سلولی لوکمیایی NB4 به تیمار با داروی آرسنیک تری‌اکسید

نویسندگان: مائده شریفی زاده[1*]، مهرداد هاشمی[2]، علی ناظمی[3]

۱- کارشناس ارشد سلولی و مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران

۲- استادیار- گروه ژنتیک مولکولی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، ایران

۳- استادیار- گروه ژنتیک مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، ایران

* نویسنده مسئول:مائده شریفی زاده **Email:maedeh.sharifizadeh@gmail.com**

چکیده

مقدمه و هدف: آرسنیک تری اکسید (ATO) در مقام دارویی توانمند برای درمان سرطان پرومیلوسیتیکی خون (APL) محسوب‌می‌شود، به‌ویژه در بیمارانی که به عود سرطان دچار شده‌اند. با وجود این، ساختار عمل آن، هنوز به‌طورکامل مشخص نیست. در این تحقیق، اثرهای سایتوتوکسیک این دارو روی سلول‌های سرطانی APL بررسی‌شده‌است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه پژوهشی تحلیلی، رده سلولی NB4 در جایگاه مدلی برای ارزیابی اثرهای سایتوتوکسیک آرسنیک تری اکسید در سلول‌های APL به‌کاررفته‌است. سلول‌های NB4 در حضور غلظت‌های مختلف ۰/۵Mμ، ۱Mμ و ۲Mμ آرسنیک تری اکسید در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه شدند و تست MTT (دی متیل تیازول- دی فنیل تترازولیوم بروماید) روی آنها انجام‌شد.

یافته‌ها: نتایج به‌دست‌آمده از این آزمون نشان‌داد که آرسنیک تری‌اکسید به صورت وابسته به دوز و زمان، کاهش معنی‌دار بقای سلول‌های NB4 و مهار رشد سلولی را باعث می‌شود.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعهٔ حاضر نشان‌می‌دهد که سلول‌های لوکمیایی به‌شدت تحت تأثیر اثرهای سایتوتوکسیک آرسنیک تری اکسید قرارمی‌گیرند که تأکیدی است بر نقش آن به عنوان یک عامل درمانی مؤثر در کنترل لوکمیای پرومیلوسیتیک حاد

واژگان کلیدی: لوکمیای پرومیلوسیتیکی حاد، سلول‌های NB4، آرسنیک تری اکسید، سایتوتوکسیک

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 0:55 IRDT on Thursday September 21st 2017

مقدمه

لوکمی پرومیلوسیتیک حاد یا APL (Acute promyelocytic Leukemia) اولین بار در دهه ۱۹۵۰ در مقام زیرمجموعه‌ای مجزا از لوکمی میلوئیدی حاد AML شناسایی‌شده که در نظام طبق بندی FAB ، $AML-M_3$ نامگذاری شده‌است. APL حدود ده تا پانزده درصد انواع AML را شامل می‌شود و اغلب در سنین چهل تا پنجاه سالگی رخ‌می‌دهد (۱). در سال ۱۳۸۳ در ایران بین تعداد کل سرطان‌های دستگاه خون‌ساز ثبت‌شده، فراوانی APL در بین زنان ، ۲/۲۲ ٪ و در بین مردان ۱./۳٦ ٪ ذکرشده‌بود (۲).

علت شایع ALP، (بیش از ۹۵٪ موارد) ترانسلوکاسیونی است که بین کروموزوم پانزده و هفده اتفاق‌می‌افتد. شکستگی در کروموزوم پانزده در ژن PML (Promyelocytic Leukemia) که یک عامل رونویسی سرکوب‌کننده رشد را کدمی‌کند و در کروموزوم هفده در ژن RARα (Retinoic Acid Receptor Alpha) که تمایز رده میلوئیدی را کنترل‌می‌کند، رخ‌می‌دهد(٤،۳)؛ حاصل این ترانسلوکاسیون، ایجاد ژن فیوژن PML_RARα است که یک پروتئین کایمریک تولیدمی‌کند؛ این پروتئین مهار بلوغ سلول‌های میلوئیدی را در مرحله پرومیلوسیتی سبب می‌شود و تمایز نهایی سلول را مختل‌می‌کند (۵).

APL بدخیم‌ترین نوع لوکمیای حاد است که به علت خون‌ریزی شدید، فقط در عرض چند هفته به مرگ منجر می‌شود (٦) اما به دلیل درمان‌پذیربودن آن به میزان بالا (بیش از ۸۰٪) در بین لوکمی‌های دیگر، منحصر به فرد است(۱). درمان بیماران APL با ATRA (All Trans Retinoic Acid) بهبود کلنیکی را در تقریبا ۹۰ % افراد سبب می‌گردد. با وجود این در حال حاضر عود بیماری و مقاومت به درمان، بزرگ‌ترین مشکل در مورد APL است (۷). استفاده از آرسنیک تری اکسید از اوایل دهه ۱۹۹۰ توانست در درمان بیمارانی که به عود سرطان دچارشده‌بودند به‌خوبی مفید واقع شود (۸). امروزه آرسنیک در مقام درمان برگزیده برای APL شناخته‌شده‌است که می‌تواند به عنوان یک عامل درمانی منفرد (بدون نیاز به ATRA و شیمی‌درمانی)، القای بهبودی کامل (CR) را در بیماران APL باعث شود (۹).

آرسنیک، یکی از عناصر طبیعی بوده و بیش از ۲٤۰۰ سال است که کاربرد دارویی دارد. آرسنیک در جایگاه قدیمی‌ترین دارو در جهان برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها از سفلیس گرفته تا انواع سرطان استفاده‌می‌شود (۱۱، ۱۰). آرسنیک تری اکسید در غلظت‌های پایین از طریق تجزیه‌کردن پروتئین فیوژن PML_RARα ، القای تمایز را در پرومیلوسیت‌های سرطانی سبب می‌شود؛ درحالی‌که در غلظت‌های بالا مهار رشد و القای آپوپتوز را در سلول‌های APL باعث می‌شود (۱۱). با وجود اثبات مؤثر بودن داروی آرسنیک در درمان بیمارانی که به عود سرطان دچار شده‌اند در دهه نود، به دلیل نامشخص بودن ماهیت سایتوتوکسیکی، حساسیت به میزان دوز دارو، میزان کارآیی و تأثیر دارو روی بیماران APL که پیش از آن هیچ درمانی دریافت‌نکرده‌اند (در اولین مرحله درمان، نه در مرحله عود سرطان) هنوز داروی آرسنیک به‌طور متداول برای درمان بیماران استفاده‌نمی‌شود. علاوه بر این، نحوه اثر آن روی سلول‌های لوکمیایی APL هنوز به‌خوبی مشخص نشده‌است (۸)؛ به همین دلیل، ما در این پژوهش، اثرهای مهار رشد و توکسیسیتی ایجادشده با دوزهای مختلف آرسنیک تری اکسید روی سلول‌های سرطانی NB4 را توسط تست MTT بررسی‌می‌کنیم.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق پژوهشی تحلیلی ، رده سلولی NB4 دارای ترانسلوکاسیون t(15,17) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران به صورت ویال تهیه‌شد؛ این سلول‌ها در محیط کشت RPMI -1640 (شرکت Gibco آمریکا) حاوی ده درصد سرم جنین گاوی (FBS) و یک درصد آنتی بیوتیک پنی سیلین و استرپتومایسین (Biosera انگلستان) و در انکوباتور ۳۷ درجه و پنج درصد دی اکسید کربن رشدیافتند.

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 0:55 IRDT on Thursday September 21st 2017

برای تیمار دارویی، تمام سلول‌ها می‌بایستی با یکدیگر انطباق زمانی داشته‌باشند یعنی، همه در یک فاز رشدی قرارگیرند؛ بدین منظور بعد از پاساژدادن، به آنها محیط کشت بدون سرم اضافه شد که باعث می‌شود سلول‌ها زنده بمانند و عدم وجود FBS در آن موجب می‌شود سلول‌ها دیگر رشدنکرده، همه در یک فاز باقی بمانند .

برای تیمار دارویی سلول‌ها از آمپول‌های آرسنیک که غلظت آنها ۵۰۰۰Mμ است استفاده‌شد. به دلیل غلظت بالای آمپول‌های آرسنیک، ابتدا استوکی با غلظت Mμ ۱۰۰ از آن در حجم ۱۰ml یا ۱۰۰۰۰ μl ساخته شد و سپس محلول دارویی مورد نیاز، از این استوک همراه با محیط کشت سرم‌دار تهیه‌شد. به‌منظور تعیین اثرهای بهینه دارو، دو متغیر دوز و زمان در این تحقیق درنظر-گرفته‌شد. سلول‌های سرطانی با غلظت‌های ۰/۵Mμ، ۱Mμ و ۲Mμ آرسنیک تری اکسید و با رعایت فواصل زمانی ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت مورد تیمار قرارگرفتند. بررسی‌های فارماکوکینتیکی نشان‌داده که این غلظت‌ها معادل وزن جرمی $0.15\ mg\ kg^{-1}$ آرسنیک است که روزانه به بیمار تزریق‌می‌شود و بی‌درنگ، پس از تزریق، یک پیک 5.5-7.5 Mμ آرسنیک در پلاسما حاصل‌می‌کند که به‌سرعت به سطح پایدارتر 2-1 Mμ کاهش می‌یابد و محدوده درمانی آرسنیک تری اکسید است (۱۳،۱۲). از تست MTT برای تعیین بقای سلول‌ها استفاده‌شد.

MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5- Bromide) diphenyltetrazolium یک روش سنجش کالریمتریک برای اندازه‌گیری توان حیاتی سلول و اثرهای سایتوتوکسیک آن است. اساس این روش بر پایه تغییر تترازولیوم زرد است که در آب غیر محلول بوده، به‌صورت کریستال‌های آبی فورمازون دیده‌می‌شود. تترازولیوم زرد توسط آنزیم میتوکندریایی سوکسینات دهیدروژناز در سلول‌های زنده شکسته‌شده، فورمازون غیر محلول را در آب تولیدمی‌کند که جذب نوری آن با روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری‌می‌شود. میزان تجمع فورمازون نشان‌دهنده میزان فعال‌بودن این آنزیم و در نتیجه میزان بقای سلول‌ها است.

برای تهیه محلول MTT با غلظت ۵mg/ml، ۵۰mg از پودرMTT در ۱۰ml از PBS، M ۰/۱۵ حل‌شد. صد میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی که محتوی ۵۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ سلول است داخل هر ول از پلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته‌شد. سه نمونه به عنوان کنترل درنظرگرفته‌شدند وبه ۳ خانه اول این پلیت، 100μl از سلول‌های تیمارنشده اضافه شد. در خانه‌های دیگر این پلیت، سلول‌ها با دوزهای مختلف آرسنیک تری اکسید و در زمان‌های متفاوت تیمارشدند. در تمامی موارد برای هر آزمایش سه چاهک درنظرگرفته‌شد و به صورت تریپلیکیت عمل‌شد؛ سپس 100 μl از معرف MTT ۵mg/ml به هر ول افزوده‌شد. پس از ۳ تا ٤ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، 100 μl محلول DMSO به هر چاهک اضافه و خوب پی پتینگ شد. در پایان میزان ODهای این سلول‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر قرائت شد. میزان توکسیسیتی و درصد بقای سلول‌ها با توجه به مقادیر OD به‌دست‌آمده و با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه-شد.

$$\text{درصد سایتوتوکسیتی} = 1 - \frac{\text{میانگین جذب نوری سلولها در حضور ماده توکسیک}}{\text{میانگین جذب نوری سلولهای کنترل}}$$

درصد توکسیسیتی −۱۰۰ = درصد بقا

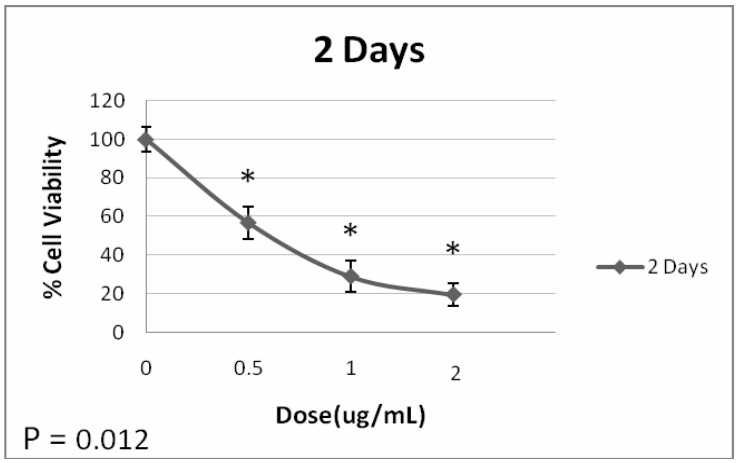
در این مطالعه، کلیه آزمایش‌ها چندبار تکرارشد که با گرفتن میانگین و تخمین انحراف معیار، میزان تغییرها محاسبه‌شد. آزمون T و آنالیز واریانس یک‌طرفه برای مقایسه داده‌ها و تحلیل آنها به‌کاررفتند. $p < ۰/۰۵$ معنی-دار درنظرگرفته‌شد.

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 0:55 IRDT on Thursday September 21st 2017

یافته‌ها

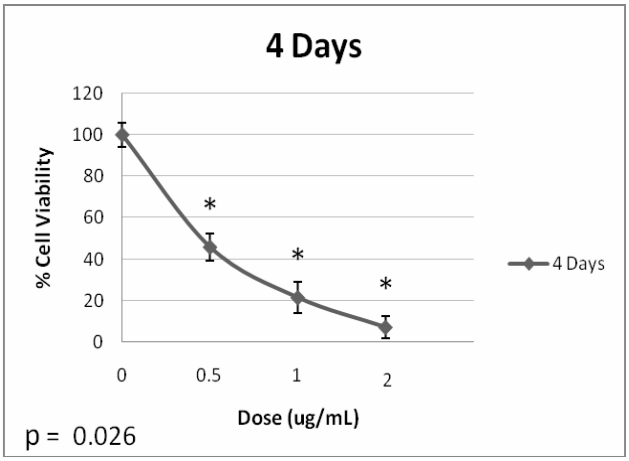
برای تعیین اثر مهاری آرسنیک تری اکسید روی رشد و تکثیر سلول‌های لوکمیایی APL ، سلول‌های NB4 با غلظت‌های ۰/۵Mμ، ۱Mμ و ۲Mμ آرسنیک به مدت ۲٤، ٤۸ و۷۲ ساعت تیمارشدند و سپس میزان بقای سلولی با استفاده از تست MTT مشخص شد. (شکل‌های ۱، ۲ و ۳)

داده‌های نشان‌داده‌شده در این نمودارها مشخص می‌کند که آرسنیک تری اکسید اثر سایتوتوکسیک معناداری روی سلول‌های NB4 اعمال‌می‌کند و بقای این سلول‌ها با افزایش هریک از دوز یا زمان تیمار با آرسنیک کاهش‌می‌یابد.



شکل ۱. درصد بقای سلول‌های NB4 که به مدت ۲۴ ساعت تحت تیمار با دوزهای مختلف آرسنیک تری اکسید قرارگرفته‌اند.

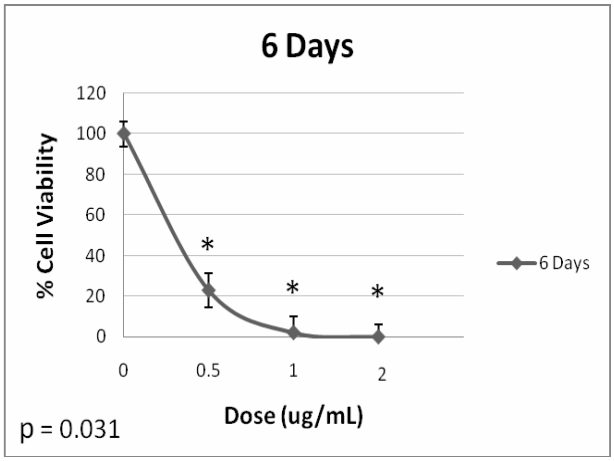
هر نقطه نمایانگر سه آزمایش و سه چاهک برای هر دوز بوده، P-value محاسبه‌شده کمتر از ۰/۰۵ است.



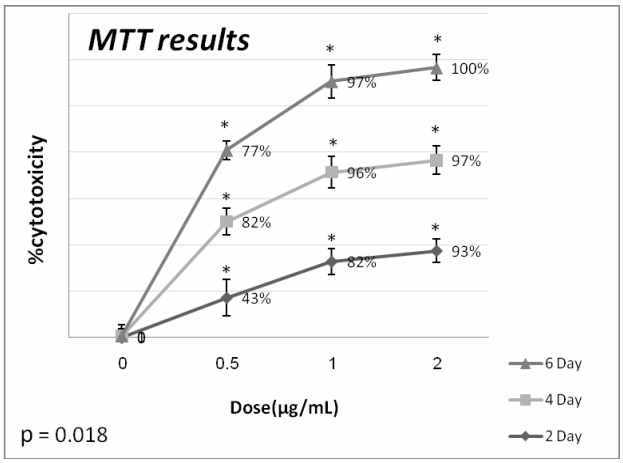
شکل ۲. درصد بقای سلول‌های NB4 بر اساس تست MTT

سلولهای سرطانی NB4 به مدت ٤۸ ساعت با آرسنیک تری اکسید تیمار شده اند.

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 0:55 IRDT on Thursday September 21st 2017



شکل ۳. درصد بقای سلول‌های NB4 تیمارشده با دوزهای مختلف آرسنیک تری اکسید پس از مدت زمان ۷۲ ساعت



شکل ۴. میزان اثر سایتوتوکسیک آرسنیک تری اکسید روی سلول‌های سرطانی NB4. در این نمودار میزان مهار رشد سلولی بر اساس متغیرهای دوز و مدت زمان استفاده از دارو نشان داده‌شده‌است.

در شکل یک، سلول‌های سرطانی NB4 همان‌گونه که در قسمت مواد و روش‌ها شرح‌داده‌شد با غلظت‌های مختلف آرسنیک تری اکسید به مدت ۲٤ ساعت تحت تیمار قرارگرفتند و میزان بقای سلولی بر اساس تست MTT تعیین‌شد. با توجه به نمودار شکل ۱ مشخص است که با افزایش دوز دارو در زمان ۲٤ ساعت، درصد بقای سلولی کاهش‌می‌یابد.

در شکل یک، سلول‌های سرطانی NB4 همان‌گونه که در قسمت مواد و روش‌ها شرح‌داده‌شد با غلظت‌های مختلف آرسنیک تری اکسید به مدت ۲٤ ساعت تحت تیمار قرارگرفتند و میزان بقای سلولی بر اساس تست MTT تعیین‌شد. با توجه به نمودار شکل ۱ مشخص است که با افزایش دوز دارو در زمان ۲٤ ساعت، درصد بقای سلولی کاهش‌می‌یابد.

همان‌گونه که نمودار شکل دو نشان‌می‌دهد با گذشت ٤۸ ساعت از مصرف دارو، آرسنیک تری اکسید اثر سایتوتوکسیک معناداری روی سلول‌های NB4 گذاشته‌است.

نتایج نمودار شکل سه به وضوح نشان‌می‌دهد که پس از ۷۲ ساعت تیمار با دوزهای مختلف آرسنیک تری اکسید ، بقای سلول‌های NB4 به‌شدت کاهش‌یافته‌است و در دوز ۲µ g/mL به صفر رسیده‌است که بیشترین میزان سایتوتوکسیسیتی وجوددارد.

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 0:55 IRDT on Thursday September 21st 2017

همان‌گونه که از منحنی شکل ٤ برمی‌آید هرچه سلول‌های سرطانی در زمانی طولانی‌تر با دارو تحت تیمار قرارگرفته‌اند، میزان رشدشان کمتر شده‌است؛ همچنین در دوزهای بالاتر ممانعت از رشد سلولی سریع‌تر و به میزان بیشتری صورت‌گرفته‌است. نتایج تست MTT این تحقیق به‌خوبی مؤثربودن داروی آرسنیک تری اکسید در مهار رشد سلول‌های سرطانی را نشان‌می‌دهد.

بحث

ما در این طرح تحقیقی با هدف تعیین اثرهای مهاری آرسنیک تری اکسید روی رشد و تکثیر سلول‌های لوکمیایی APL نشان‌دادیم که تیمار سلول‌های سرطانی NB4 با آرسنیک تری اکسید ایجاد سایتوتوکسیسیتی و مهار رشد سلول‌های سرطانی را هم به صورت وابسته به دوز و هم به صورت وابسته به زمان باعث می‌شود.

در ارتباط با بررسی اثرهای سایتوتوکسیک آرسنیک، Tchounwou و همکارانش در سال ۲۰۰۲ نشان‌دادند که آرسنیک تری اکسید، مهار رشد سلول‌های HepG2 کارسینومای کبدی را باعث می‌شود و LD50 معادل 8.55μg/mL را برای ٤٨ ساعت تیمار نتیجه‌گرفتند (١٤). در سال ۲۰۰۳، Cai و همکارانش مشاهده‌کردند که ارتباط تنگاتنگی بین آپوپتوز القایی توسط آرسنیک و توقف میتوزی وجود دارد؛ این پژوهشگران گزارش‌کردند که آرسنیک ممکن است در قطع تقسیم میتوزی از سم‌های میکروتوبولی تقلید کند و توقف میتوزی می‌تواند یک روش مشترک در القای آپوپتوز آرسنیک در اغلب سلول‌های سرطانی باشد (١٥) . در سال ٢٠٠٦، Yedjou و همکارانش، اثرهای سایتوتوکسیک آرسنیک را روی سلول‌های HL60 (Human leukemia) با استفاده از تست MTT بررسی‌کردند و مشاهده کردند که آرسنیک به صورت وابسته به دوز و زمان رشد سلول‌های HL60 را مهارمی‌کند (١٦). در راستای ادامه این پژوهش‌ها ما اثرهای سایتوتوکسیک آرسنیک را روی سلول‌های لوکمیایی NB4 نشان‌دادیم و مشاهده‌کردیم که دوزهای پایین آرسنیک تری اکسید کم‌ترین میزان توکسیسیتی را در زمان٢٤ ساعت در سلول‌های NB4 القامی‌کنند و جالب اینکه این غلظت‌ها، همان دوزهای مؤثر درمانی آرسنیک‌اند که نشان‌داده‌شده در بیماران APL، القای بهبودی کامل (CR) را با کم‌ترین توکسیسیتی باعث می‌شوند. از نظر کلینیکی، دوز استاندارد برای درمان بیماران APL ، 0.15mg/kg در روز است که نتیجه‌ای معادل دوز ۲-۱ μM در پلاسما می‌دهد (١٧). غلظت‌های بالاتر آرسنیک تری اکسید (٥ μg/mL به بالا در ٢٤ ساعت)، القای بیش از ٥٠٪ مرگ‌ومیر سلولی را سبب می‌شود؛ چنین اثرهایی به‌خوبی در مطالعات کلینیکی با انواع آزمایش‌ها مشاهده‌شده‌است (١٨).

آرسنیک روی سلول‌های سرطانی APL اثری وابسته به دوز اعمال‌می‌کند. آرسنیک تری اکسید در غلظت‌های پایین (٠/٥ – ٠/١ μM) پروتئین فیوژن PML_ RARα را تجزیه‌می‌کند (١٩،١٠) در نتیجه با غلبه بر اثر منفی فیوژن روی عملکرد طبیعی PML و RARα و تغییر در بیان ژن‌ها و مسیرهایی که این فاکتورهای رونویسی در آن نقش‌داشتند، القای تمایز در پرومیلوسیت‌های سرطانی را موجب می‌شود (٢٠). غلظت‌های بالای آرسنیک تری اکسید (٢-٠/٥ μM) مسیرهای آپوپتوز پرومیلوسیت‌ها و سایر سلول‌های سرطانی را از طریق شیوه های مختلف هدف قرارمی‌دهد (٢٠، ٧).

آرسنیک در مقام قدیمی‌ترین داروی جهان، هم در طب سنتی چین و هم در پزشکی غرب کاربردداشته‌است و تاریخچه استفاده از آن به ٣٧٠ سال قبل از میلاد برای درمان زخم‌های پوستی و ٢٦٣ سال قبل از میلاد در درمان تب مالاریا برمی‌گردد (٢١). با وجود این کارسینوژنسیتی آن نیز به‌خوبی اثبات و مشخص شده که تغییر در پیام‌رسانی سلولی شامل تولید ROS ، فسفریلاسیون تیروزین ، سیگنا لینگ MAPK ، فعال‌سازی مسیر NF-kB ، مهار چرخه سلولی و آپوپتوز به‌طور مستقیم با کارسینوژنسیتی آرسنیک در ارتباط است (٢٢).

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 0:55 IRDT on Thursday September 21st 2017

از دیدگاه بیوشیمیایی به‌خوبی مستند شده‌است که آرسنیک می‌تواند با اتصال به گروه‌های سولفیدریل، بعضی آنزیم‌های مهم را غیر فعال‌کند. علاوه‌بر این، آرسنیک قادر است با جابه‌جایی گروه‌های فسفات در واکنش‌های بیوشیمیایی و فرآیندهای فسفریلاسیون - دفسفریلاسیون مداخله‌کند (۱۱)؛ همچنین نشان‌داده‌شده- است که آرسنیک می‌تواند در پستانداران، ناهنجاری‌های کروموزومی، تعویض کروماتیدهای خواهری، اتصالات عرضی پروتئین- DNA و ایجاد شکست در رشته‌های DNA متصل به پروتئین را سبب‌شود (۲۳).

ROS می‌تواند مسیرهای سیگنالینگ سلولی را که بیان ژن‌ها را تنظیم می‌کنند، تحت تأثیر قراردهد(۲٤). ROS، پراکسید هیدروژن، سوپر اکسید آنیون، رادیکال هیدروکسیل، پراکسیل و آلکوکسیل را شامل می‌شود. به‌تازگی ثابت شده که این مولکول‌ها در تنظیم بسیاری وقایع مهم سلولی از جمله فعال‌سازی عوامل رونویسی، تغییر در بیان ژن‌ها، تمایز و تکثیر سلولی نقش دارند (۲٦،۲۵). تصور می‌شود که تولید ROS توسط آرسنیک، مهم‌ترین علت کارسینوژنسیتی آن است (۲۷). اگرچه سلول‌ها واجد ساختارهای آنتی اکسیدانتی برای کنترل وضعیت ردوکس خود هستند که برای حیات سلول ضروری است ولی گاهی ROS بیش از حد تولیدمی‌شود و فعال‌شدن پدیده‌هایی را سبب‌می‌گردد که به مرگ یا بقا در بعضی انواع سلولی منجر می‌شود (۲۵). افزایش استرس اکسید اتیو به‌طور مستقیم به القای آپوپتوز توسط آرسنیک مرتبط است (۲۸). تجمع ROS درون سلولی توسط آرسنیک تری اکسید به هدررفتن پتانسیل غشایی میتوکندری و رهاسازی سیتوکروم C، و در پی آن، فعال‌سازی کاسپازها و درنهایت مرگ برنامه‌ریزی‌شده منجرمی‌شود (۷).

مطالعات in vitro نشان‌داده که مشتقات آرسنیک به واقع، فعالیت آنتی نئوپلاستیک گسترده‌ای فراتر از APL دارند. آرسنیک می‌تواند در بدخیمی‌هایی از جمله میلومای چندگانه، لوکمیای لنفوسیتی مزمن، لیمفومای non-Hodgkin`s و انواع تومورهای سفت آپوپتوز را القاکند (۲۹)؛ بنابراین توجه روزافزونی نسبت به آرسنیک تری اکسید به عنوان عامل درمانی بالقوه به‌ویژه در بدخیمی‌هایی که با درمان‌های قراردادی به عود سرطان دچارمی‌شوند به‌وجودآمده‌است. شیوه های عمل متعددی که آرسنیک تری اکسید از طریق آنها، القای تمایز و آپوپتوز را سبب می‌شود، ظرفیت بالای آن را برای کاربردهای کلینیکی به‌ویژه در ترکیب با سایر عوامل برای کنترل طیف وسیعی از بدخیمی‌ها اثبات‌می- کند. ترکیب آرسنیک تری اکسید با ATRA می‌تواند در بهبود اثرهای درمانی هر دو دارو مفید باشد و از دوز توکسیک آنها بکاهد. ازآنجایی‌که در ایران، بر خلاف سایر کشورها، آرسنیک تری اکسید در اولین مرحله درمان بیماران APL استفاده‌می‌شود تحقیق‌های آتی روی این درمان‌های ترکیبی می‌تواند افقی جدید در درمان این بیماران در کشورمان بگشاید (۳۰،۳۱).

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 0:55 IRDT on Thursday September 21st 2017

منابع

1. Francesco Lo-Coco1, Emanuele Ammatuna1, Miguel A. Sanz. Current treatment of acute promyelocytic leukemia. Haematologica 2007; 92:289-91.

2. Ziaei JE. High frequency of acute promyelocytic leukemia in northwest Iran. Asian Pac J Cancer Prev 2004; 5:188-89

3. Chomienne C, Lanotte M, degos L, dejean A. The t(15;17) translocation of acute promyelocytic leukemia fuses the retinoic acid receptor alpha gene to a novel transcribed locuse. Nat 1990; 347(6293): 558-61.

4. Paolo Salomoni, Pier Paolo Pandolfi. The Role of PML in Tumor Suppression, Cell 2002;108:165–70.

5. Sanz, Grimwade, Tallman. Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European Leukemia Net. Blood 2009; 113:1875-91.

6. Martin S. Tallman. Treatment of relapsed or refractory acute promyelocytic leukemia . Best Practice & Research Clinical Haematology 2007; 20:57-65.

7. Zhen-Yi Wang, Zhu Chen. Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable Blood 2008; 111:2505-15.

8. Donna Amran, Yolanda Sanchez, Carlos Fernandez. Arsenic trioxide sensitizes promonocytic leukemia cells to TNF-induced apoptosis via p38-MAPK-regulated activation of both receptor-mediated and mitochondrial pathways. Biochimica et Biophysica Acta 2007; 1773:1653-63.

9. Zuanel Diaz, Myrian Colombo, Koren K. Mann, Haixiang Su. Trolox selectively enhances arsenic-mediated oxidative stress and apoptosis in APL and other malignant cell lines, Blood 2005; 105:1237-45.

10. Kim JH, Yu YS, Kim DH, Kim CJ, Kim KW. Antitumor activity of arsenic trioxide on retinoblastoma: cell differentiation and apoptosis depending on arsenic trioxide concentration. Invest Ophthalmol Vis Sci 2009; 50:1819-23.

11. Jun Zhu, Zhu Chen, Valérie Lallemand-Breitenbach. How acute promyelocytic leukaemia revived arsenic. Nat Reviews 2002; 2:1-9.

12. Shen ZX, Chen GQ, Ni JH, Li XS, Xiong SM. Use of arsenic trioxide (As2O3) in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL): II. Clinical efficacy and pharmacokinetics in relapsed patients. Blood 1997; 89:3354–60.

13. Momeny M, Zakidizaji M, Ghasemi R, Ghaffari H. Arsenic trioxide induces apoptosis in NB-4, an acute promyelocytic leukemia cell line, through up-regulation of p73 via suppression of nuclear factor kappa B mediated inhibition of p73 transcription and prevention of NF-jB-mediated induction of XIAP, cIAP2, BCL-XL and survivin, Med Oncol 2009.

14. Tchounwou, P.Wilson, B.Abdelgnani, A. Ishaque, A.Patlolla. Differential cytotoxicity and gene expression in human liver Carcinoma (HepG2) cells exposed to arsenic trioxide and monosodium acid methanearsonate (MSMA). Int J Mol Sci 2002; 3:1117-32.

15. X. Cai, Y. Yu, Y. Huang, L. Zhang, P.M. Jia, Q. Zhao. Arsenic trioxide-induced mitotic arrest and apoptosis in acute promyelocytic leukemia cells, Leukemia 2003; 17:1333–37.

16. Clement Yedjou, Pamela Moore, Paul B. Tchounwou. Int. J. Environ. Res. Public Health 2006; 3:136-40.

17. Soignet, Frankel, Douer, Tallman, Kantarjian, Calleja. United States multicenter study of arsenic trioxide in relapsed acute promyelocytic leukemia. J. Clin. Oncol 2001; 19:3852-60.

18. Amadori, S. Fenaux, P. Ludwig. Use of arsenic trioxide in haematological malignancies: insight into the clinical development of a novel agent. Curr Med Res Opin 2005; 21: 403-11.

19. Pierre J. Dilda, Philip J. Hogg. Arsenical-based cancer drugs, Cancer Treatment Reviews 2007; 33:542:64.

20. James L.Slack, Samuel Waxman, Guido Tricot, Martin S.Tallman. Advances in the Management of Acute Promyelocytic Leukemia and Other Hematologic Malignancies with Arsenic Trioxide. The Oncologist 2002; 7:1-13.

21. Yong Qian, Vince Castranova, Xianglin Shi. New perspectives in arsenic-induced cell signal transduction, J of Inorganic Biochem 2003; 96:271–78.

22. Steven L. Soignet, Peter Maslak, Zhu-Gang Wang, Suresh Jhanwar. Complete Remission after Treatment of Acute Promyelocytic Leukemia with Arsenic Trioxide. N Engl J Med 1998; 339:1341-48.

23. Kirk T. Kitchin, Kathleen Wallace. Evidence against the nuclear in situ binding of arsenicals–oxidative stress theory of arsenic carcinogenesis. Toxicology and Applied Pharmacology 2008; 232:252-57.

24. Chuanshu Huang, Qingdong Ke, Max Costa, Xianglin Shi. Molecular mechanisms of arsenic carcinogenesis. Mol and Cell Biochem 2004; 255:57–66.

25. Yong Hwan Hana, Sung Zoo Kima, Suhn Hee Kima, Woo Hyun Park. Arsenic trioxide inhibits the growth of Calu-6 cells via inducing a G2 arrest of the cell cycle and apoptosis accompanied with the depletion of GSH. Cancer Lett 2008; 270(1):40-55.

26. H.U. Simon, A. Haj-Yehia, F. Levi-Schaffer. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. Apoptosis 2000; 5:415–18.

27 . Wen-Chien Chou, Chunfa Jie, Andrew A. Kenedy. Role of NADPH oxidase in arsenic-induced reactive oxygen species formation and cytotoxicity in myeloid leukemia cells. PNAS 2004; 101:4578–83.

28. Jie Wang 1, Lingna Li 1, Hui Cang, Guiying Shi, Jing Yi. NADPH oxidase-derived reactive oxygen species are responsible for the high susceptibility to arsenic cytotoxicity in acute promyelocytic leukemia cells, Leukemia research 2007;1-8

29. Mathews V, George B, Lakshmi KM. Single-agent arsenic trioxide in the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: durable remissions with minimal toxicity. Blood 2006; 107: 2627–32.

30. Ghavamzadeh A, Alimoghaddam K, Ghaffari SH. Treatment of acute promyelocytic leukemia without ATRA and/or chemotherapy. Ann Oncol 2006; 17:131-134.

31. Miguel A. Sanz, Treatment of Acute Promyelocytic Leukemia, Hematology 2006: 147-155

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 0:55 IRDT on Thursday September 21st 2017

Daneshvar

Medicine

Scientific-Research Journal of Shahed University Eighteenth Year, No.90 December, January 2010-2011

Received: 18/9/2010
Last revised: 15/1/2011
Accepted: 16/1/2011

Dose- and time-dependent response of human leukemia cell line NB4 to arsenic trioxide treatment

Maedeh Sharifizadeh[1], Mehrdad Hashemi[2], Ali Nazemi[3]

1. Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.
2. Assistant Professor – School of Medicine, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Assistant Professor –Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon.

Email: maedeh.sharifizadeh@gmail.com

Abstract

Background and Objective: Although arsenic trioxide has been shown to be a potential drug in treatment of APL, most notably in patients with relapsed APL, the underlying mechanisms remains unclear. In this study, the cytotoxic effect of ATO on APL cancer cells was evaluated.

Materials and Methods: In this basic-applied study, the human leukemia (NB4) cell line was used as a model to evaluate the cytotoxic effects of arsenic trioxide in APL cells. NB4 cells were exposed to different concentrations of ATO (0.5, 1, 2 µM) for 2, 4 and 6 days and dimethylthiazol diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay was applied to them.

Results: Data obtained from this assay indicated that arsenic trioxide significantly reduced the viability of NB4 cells and inhibited cell growth in a time and dose dependent manner.

Conclusion: Findings from the present study indicate that arsenic trioxide is highly cytotoxic to human leukemia cells, supporting its use as an effective therapeutic agent in the management of acute promyelocytic leukemia.

Key words: Arsenic trioxide, Acute promyelocytic leukemia, NB4 cells, cytotoxic