Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2016; 19(108): 19-26

Combined Effect of 5-Fluorouracil and Acriflavine on Mortality Rate of Colorectal Cancer Cell Lines

Parsa Zargar[1], Esmaeel Ghani[2], Farideh Jalali Mashayekhi[3], Ebrahim Eftekhar[4*]

1-MSc Student in Physiology, Department of Physiology, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Physiology, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Biochemistry and Genetics, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.
4- Assistant Professor, Stem Cell Research Center, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

Received: 11 Jan 2016, Accepted: 16 Feb 2016

Abstract

Background: A small percent of patients with colorectal cancer (CRC) respond to 5-Fluorouracil (5-FU), as a first line of chemotherapy. In this study in, in order to design a new chemotherapy protocol, the effect of 5-FU and acriflavine (ACF) cotreatment on mortality rate of CRC cell lines was investigated.

Materials and Methods: Cytotoxicity of 5-FU and ACF against CRC cell lines (LS174T, SW480 and HCT116) was detected using MTT assay. Cells were treated with different concentrations of 5-FU (0.5-64 μM) or ACF (0.07-5 μM) for 72 hours and then cell viability and drugs IC50 was calculated. To assess the effect of ACF on anticancer activity of 5-FU, cells were cotreated with different concentrations of 5-FU and IC30 concentration of ACF.

Results: ACF and 5-FU suppress the viability of CRC cell lines in dose-dependent manner. 5-FU and ACF have most cytotoxic effect on LS174T and the lowest cytotoxic effect on SW480 cells. Cotreatment of ACF with 5-FU could not significantly change the sensitivity of cells against 5-FU ($p>0.05$).

Conclusion: In this study, the fatal and cytotoxic effect of ACF on three CRC cell lines was shown. However, cotreatment of ACF with 5-FU could not improve the anticancer activity of 5-FU.

Keywords: 5-fluorouracil, Acriflavine, Colorectal cancer, Chemotherapy

*Corresponding Author:
Address: Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran
Email: Eftekhar19@gmail.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۱۹، شماره ۳ (شماره پیاپی ۱۰۸)، خرداد ۱۳۹۵،۲۶-۱۹

تأثیر ترکیب داروی ۵- فلوئورویوراسیل و اکریفلاوین بر میزان مرگ و میر سلول‌های رده سرطان کولورکتال

پریسا زرگر[۱]، اسماعیل غنی[۲]، فریده جلالی مشایخی[۳]، ابراهیم افتخار[۴*]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران.

۲- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران.

۳- استادیار، گروه بیوشیمی و ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۴- استادیار، مرکز تحقیقات سلولهای بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: درصد کمی از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال (CRC) به داروی ۵- فلوروویوراسیل (5-FU)، به عنوان داروی شیمی درمانی رایج، پاسخ می‌دهند. در مطالعه حاضر با هدف طراحی و مطرح ساختن یک پروتکل شیمی درمانی جدید، تأثیر ترکیب هم زمان اکریفلاوین (ACF) با 5-FU برمیزان مرگ و میر سلول‌های CRC مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: از تست MTT برای ارزیابی اثر سیتوتوکسیک داروهای 5-FU و ACF بر رده‌های سلولی CRC (LS174T،HCT116 و SW480) استفاده شد. سلول‌ها با غلظت‌های متفاوت آکریفلاین (۰/۰۷ تا ۵ میکرومولار) یا 5-FU (۰/۵ تا ۶۴ میکرومولار) برای ۷۲ ساعت تیمار شدند و سپس درصد زنده ماندن سلول‌ها و IC50 داروها محاسبه شد. برای ارزیابی تأثیر داروی ACF بر خاصیت ضد سرطانی 5-FU، سلول‌ها با غلظت‌های متفاوت 5-FU و غلظت IC30 داروی ACF به صورت هم زمان تیمار شدند.

یافته‌ها: ACF و 5-FU یک اثر مهاری وابسته به دوز بر رشد سلول‌های رده CRC داشتند. سلول‌های LS174T بیشترین و سلول‌های SW480 کمترین حساسیت را در مقابل داروی ACR و 5-FU نشان دادند. تیمار هم زمان دو دارو نشان داد که در حضور ACF حساسیت سلول‌ها در مقابل 5-FU تغییر معنی‌داری نمی‌یابد($p>۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که داروی ACF بر هر سه رده سلول‌های CRC دارای اثر سیتوتوکسیک بوده و باعث مرگ و میر آن‌ها می‌شود. با این حال استفاده هم‌زمان از ACF و 5-FU نمی‌تواند خاصیت ضد سرطانی داروی 5-FU را بهبود بخشد.

واژگان کلیدی: ۵- فلوئورویوراسیل، اکریفلاوین، سرطان کولورکتال، شیمی درمانی

***نویسنده مسئول:** ایران، بندرعباس، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی

Email: Eftekhar19@gmail.com

مقدمه

سرطان کولورکتال (CRC) یکی از شایع‌ترین بدخیمی ها و جزء عوامل اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در جهان محسوب می‌گردد (۱). CRC سومین سرطان شایع در مردان (بعد از سرطان ریه و پروستات) و دومین سرطان شایع در زنان (بعد از سرطان پستان) می‌باشد. سالانه حدود ۱۳۶۰۰۰ نفر به این بیماری مبتلا می‌شوند(۲). در کشور ایران CRC سومین سرطان شایع در بین زنان و پنجمین در بین مردان می‌باشد(۳). روش‌های درمانی به مرحله بیماری، وضعیت بیمار و به طور فزاینده‌ای به ویژگی‌های ژنوتیپی و مولکولی تومور وابسته است(۴). جراحی به عنوان درمان اولیه سرطان کولورکتال می‌باشد. در حالی که درصد زیادی از بیماران CRC در زمان تشخیص بیماری متاستاز را نیز نشان می‌دهند و در این بیماران جراحی همیشه نمی‌تواند از عود و پیشرفت کامل بیماری جلوگیری نماید. بدین جهت شیمی درمانی به عنوان درمان مکمل جهت کاهش ریسک عود بیماری صورت می‌گیرد(۴). در حدود ۵۸ درصد از بیماران CRC کاندید دریافت شیمی درمانی هستند(۵).

شیمی درمانی با استفاده از داروی 5 - فلوروپیوراسیل (5-FU) به عنوان اولین خط درمانی مکمل در بیماران با CRC پیشرفته می‌باشد. 5-FU یک پیریمیدین فلوئوردار است که از طریق مهار آنزیم تیمیدیلات سنتاز باعث منع بیوسنتز نوکلئوتید تیمین و در نتیجه موجب مرگ سلول می‌گردد(۶). اگرچه استفاده از 5-FU موجب افزایش طول عمر بیماران می‌گردد، اما در اکثر موارد مقاومت نسبت به دارو دیده می‌شود. در واقع تنها ۲۶ درصد از بیماران به درمان با 5-FU پاسخ می‌دهند(۷). مقاومت در برابر داروهای ضد سرطان می‌تواند در نتیجه علل مختلف از جمله تغییر نفوذ و جریان دارو، افزایش غیر فعال شدن دارو و جهش در ژن هدف دارو باشد. افزایش سطح بیان تیمیدیلات سنتاز، متیلاسیون ژن MLH1، افزایش بیان پروتئین‌های دخیل در آپوپتوز مانند BCL-2، Bcl-XL و Mcl-1 و هم‌چنین فاکتورهای مختلف دیگر منجر به مقاومت در برابر 5-FU می‌گردد(۸، ۹). به دلیل مقاومت دارویی، در طول ۳۰ سال گذشته تلاش‌های زیادی جهت افزایش خاصیت ضد سرطانی 5-FU صورت گرفته است. بدین منظور از ترکیب دارویی 5-FU با ترکیباتی مانند لوکوورین (۵- فرمیل تتراهیدروفولات)، ایرینوتکان و اگزالی پلاتین استفاده شده است که هر کدام تا حدودی باعث افزایش اثرات ضدسرطانی 5-FU شده و بقای بیماران مبتلا به CRC را بهبود بخشیده است(۶، ۱۰). با این وجود درصد زیادی از بیماران از درمان دارویی سودی نمی‌برند و تعداد زیادی از آن‌ها در مراحل پیشرفته بیماری می‌میرند(۱۱). بنابراین طراحی پروتکل‌های شیمی درمانی و دارویی جدید جهت افزایش طول عمر و بقای بیماران و نیز غلبه بر مقاومت دارویی در CRC هم‌چنان جزء عرصه‌های بسیار فعال تحقیقاتی می‌باشد.

آکریفلاوین (ACF) مخلوطی از دو مولکول اکریدین با ساختار مشابه (تری پافلاوین و پروفلاوین) می‌باشد که دارای خاصیت ضد میکروبی است. این ماده به عنوان یک عامل ضد عفونی کننده شناخته شده است که مکانیسم عمل آن مهار سنتز دیواره سلولی، سنتز پروتئین و سنتز DNA می‌باشد(۱۲). ACF به صورت موضعی یا تزریق سیستمیک مورد استفاده قرار می‌گیرد و نیمه عمر فارموکنتیک کوتاهی دارد و در غلظت بالای پلاسمایی به خوبی قابل تحمل است و استفاده از آن توسط FDA تأیید شده است(۱۱). ارزیابی تأثیر ACF بر سلول‌های سرطانی از سالیان پیش مورد توجه بوده است و براساس خصوصیات شیمیایی آن به عنوان عامل کنتراست تصویربرداری برای تشخیص نئوپلاسم‌های بدخیم نیز مورد استفاده قرار می‌گرفته است(۱۳).

مطالعات نشان داده است که ACF دیمر شدن فاکتور القای هیپوکسی ۱ (HIF1) را مهار می‌کند و در نتیجه باعث مهار رگ‌زایی و سرکوب رشد تومور می‌شود(۱۲). تأثیر ACF بر رده سلولی A549 مربوط به آدنوکارسینومای ریه، نشان داد که این ترکیب رشد سلول‌ها را کاهش می‌دهد و باعث توقف رشد سلول‌ها در فاز M/G2 چرخه سلولی می‌گردد(۱۴).

با توجه به این که درصد قابل توجهی از بیماران CRC به داروی 5-FU مقاومت نشان می‌دهند، از این رو

طراحی پروتکل‌های داروی شیمی درمانی جدید بسیار حائز اهمیت است. هدف از این مطالعه آن است که تأثیر تیمار هم زمان داروی ACF با 5-FU بر روی سلول‌های رده سرطان کولورکتال را مورد ارزیابی قرار دهیم. شاید این تیمار هم‌زمان باعث افزایش خاصیت ضد سرطانی داروی 5-FU و در نتیجه غلبه بر مقاومت دارویی سلول‌ها در مقابل 5-FU و در نهایت افزایش مرگ و میر سلول‌ها گردد.

مواد و روش‌ها

کشت سلول

در این مطالعه تجربی، سه رده سلولی سرطان کولورکتال (HCT116،LS174T و SW480) از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. سلول‌های HCT116 و LS174T در محیط کشت DMEM (Shell max) و سلول SW480 در RPMI-1640 (shell max) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (گیبکو)، ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر پنی‌سیلین (گیبکو) و ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر استرپتومایسین (گیبکو) کشت داده شدند و در شرایط استاندارد، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۹۵ درصد و ۵ درصد CO_2 انکوبه شدند.جهت پاساژدادن سلول‌ها از آنزیم تریپسین ۰/۲۵ درصد استفاده شد.

بررسی میزان بقای سلول به روش MTT

برای ارزیابی حساسیت و اثر سیتوتوکسیک داروهای 5-FU و ACF بر روی سلول‌ها از تست MTT (۳، ۴ و ۵ دی متیل تیازول -۲- ایل)-۲ و ۵- دی فنیل تترازوتیوم بروماید استفاده شد. اصول تست MTT بدین صورت است که آنزیم دهیدروژنازهای میتوکندری در سلول‌های زنده و فعال از نظر متابولیسمی قادرند نمک زرد تترازولیوم را شکسته و کریستال‌های فورمازان ارغوانی را به وجود آورند که شدت رنگ این کریستال پس از حل شدن در دی متیل سولفوکسید (DMSO) با تعداد سلول‌های زنده متناسب است(۱۵).

برای انجام تست MTT ، تعداد ۸۰۰۰ سلول از هر کدام از رده‌های HCT116،LS174T،SW480 با لام نئوبار شمارش شد و در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای کشت داده شد و برای ۲۴ ساعت در شرایط استاندارد انکوبه شدند. سپس سلول‌ها با غلظت‌های متفاوت آکریفلاین (سیگما) (۵- ۰/۰۷ میکرومولار) به مدت ۷۲ ساعت تیمار شدند. در مرحله بعد مقدار ۲۰ میکرولیتر از محلولMTT (با غلظت نهایی ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) به چاهک‌ها اضافه شد و به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. در مرحله آخر محلول رویی دور ریخته شد و کریستال‌های تشکیل شده در ۱۰۰ میکرولیتر از DMSO حل شد و جذب نوری هرچاهک با استفاده از دستگاه الایزاریدر (Stat Fax 2100,USA) در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت گردید.

برای محاسبه درصد زنده ماندن سلول‌ها، جذب سلول‌های تیمار شده با دارو بر جذب سلول‌های گروه کنترل (بدون دارو) تقسیم شده و در عدد ۱۰۰ ضرب شد. برای محاسبه IC50 (غلظتی از دارو که باعث ۵۰ درصد مرگ و میر می‌شود) و IC30 (غلظتی از دارو که باعث ۳۰ درصد مرگ و میر می‌شود) داروی ACF ، از نرم افزار Graph pad prism نسخه ۵ استفاده شد. برای تعیین حساسیت سلول‌ها در مقابل داروی 5-FU نیز هر سه رده سلولی با غلظت‌های متفاوت 5-FU (۰/۵ تا ۶۴ میکرومولار) برای ۷۲ ساعت تیمار شدند و مطابق پروتکل بیان شده درصد زنده ماندن سلول‌ها و IC50 داروی 5-FU محاسبه شد.

برای ارزیابی تأثیر داروی ACF بر خاصیت ضد سرطانی 5-FU ، تعداد ۸۰۰۰ عدد از هر کدام از رده‌های سلولی در چاهک‌های ۹۶ خانه‌ای کشت داده شدند. سپس سلول‌ها با غلظت‌های متفاوت 5-FU (۰/۵ تا ۶۴ میکرومولار) و غلظت IC30 داروی ACF مطابق جدول ۱ به صورت هم‌زمان تیمار شدند. بعد از ۷۲ ساعت، درصد زنده ماندن سلول‌ها و هم‌چنین میزان IC50 داروی 5-FU برای سلول‌های مذکور محاسبه شد و با IC50 سلول‌ها، زمانی که با داروی 5-FU به تنهایی تیمار شده بودند، مقایسه شد. تمام آزمایشات سه بار و هر بار به صورت تکرار سه تایی انجام پذیرفت.

تحلیل آماری: نتایج به صورت میانگین±انحراف‌معیار گزارش شده است. برای مقایسه میانگین IC50 داروی 5-FU بین دو گروه از آزمون آماری من ویتنی استفاده شد. مقدار $p<۰/۰۵$ معنی‌دار فرض شد.

یافته‌ها

برای ارزیابی اثرات سیتوتوکسیک داروی ACF بر رده‌های سلولی SW480 ، HCT116 و LS174T، سلول‌ها به مدت ۷۲ ساعت با غلظت‌های ۰/۰۷ تا ۵ میکرومولار از دارو تیمار شدند. نتایج نشان داد که ACF یک اثر مهاری وابسته به دوز بر رشد این سلول‌ها دارد. با استفاده از نتایج حاصل از تستMTT ، مقادیر IC50 و IC30 برای داروی ACF در رده‌های سلولی مذکور محاسبه شد(جدول ۱).

همان‌طور که داده‌های جدول ۱ نشان می‌دهد، سلول‌های رده LS174T بیشترین و سلول‌های رده SW480 کمترین میزان حساسیت را در مقابل داروی ACF نشان می‌دهند.

جدول ۱. مقادیر IC50 و IC30 برای داروی ACF در رده های سلولی سرطان کولورکتال

رده‌های سلولی	IC50 ACF (میکرومولار) میانگین±انحراف معیار	IC30 ACF (میکرو مولار) میانگین±انحراف معیار
SW480	۰/۷۵±۰/۱۰	۰/۳۶±۰/۰۷
HCT116	۰/۵۷±۰/۲۲	۰/۲۹±۰/۱۴
LS174T	۰/۳۶±۰/۰۵	۰/۲۰±۰/۰۴

سلول‌ها به مدت ۷۲ ساعت با غلظت‌های متفاوت ACF (۰/۰۷ تا ۵ میکرومولار) تیمار شدند.

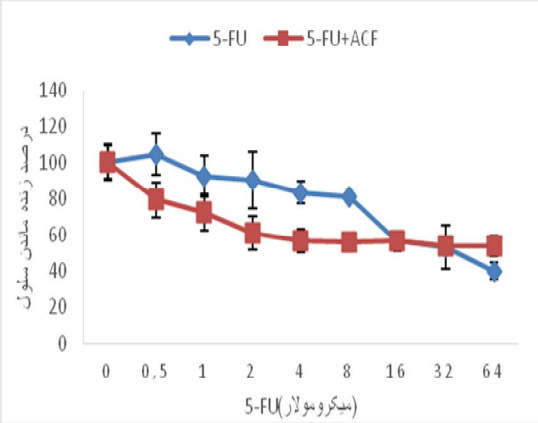
در مرحله بعد میزان حساسیت سلول‌ها در مقابل داروی شیمی درمانی 5-FU سنجیده شد. سلول‌ها با غلظت‌های متفاوت 5-FU (۰/۵ تا ۶۴ میکرومولار) به مدت ۷۲ ساعت تیمار شدند و مقدار IC50 محاسبه شد(جدول ۲). سلول‌های رده LS174T و SW480 در مقابل داروی 5-FU به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین بودند. علاوه براین نتایج نشان داد که 5-FU یک اثر مهاری وابسته به دوز بر رشد این سلول‌ها دارد.

برای ارزیابی تأثیر ACF بر خاصیت ضد سرطانی 5-FU، سلول‌ها با غلظت‌های متفاوت داروی 5-FU و غلظت IC30 از ACF به صورت هم زمان تیمار شدند. نتایج نشان داد که تأثیر هم‌زمان ACF و 5-FU تغییری در حساسیت سلول‌ها در مقابل 5-FU ایجاد نمی‌کند و مقدار IC50 داروی 5-FU زمانی که به تنهایی استفاده می‌شود در مقایسه با زمانی که به صورت تیمار هم‌زمان با ACF استفاده می‌گردد، تفاوت آماری معنی‌داری ندارد(جدول ۲).

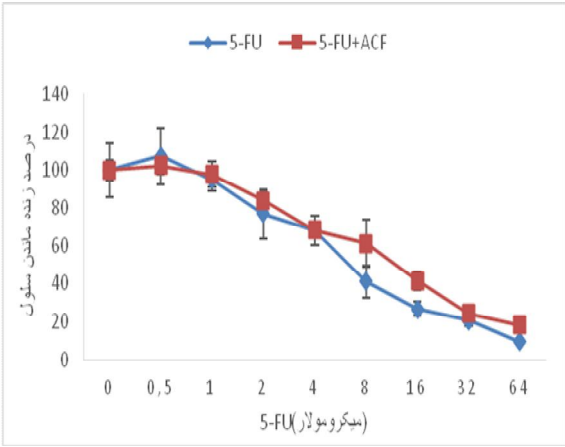
جدول ۲. مقادیر IC50 برای دارو 5-FU زمانی که به تنهایی بر روی سلول‌های رده سرطان کولورکتال استفاده شده است (ردیف ۱) در مقایسه با زمانی که به صورت تیمار هم زمان با ACF بوده است (ردیف ۲).

رده های سلولی	IC50 5-FU[1](میکرو مولار) (تیمار با 5-FU) میانگین±انحراف معیار	IC50 5-FU[2] میکرومولار (تیمار با5-FU+ACF) میانگین±انحراف معیار	p
SW480	۴۱/۸۵±۱۶/۴۴	۶۴/۶۶±۸/۲۲	۰/۲۷۵
HCT116	۷/۳۶±۴/۱۴	۱۱/۵۹±۱/۸۰	۰/۴۶۵
LS174T	۲/۳۵±۱/۱	۳/۰۷ ±۲/۲۷	۰/۵۶۴

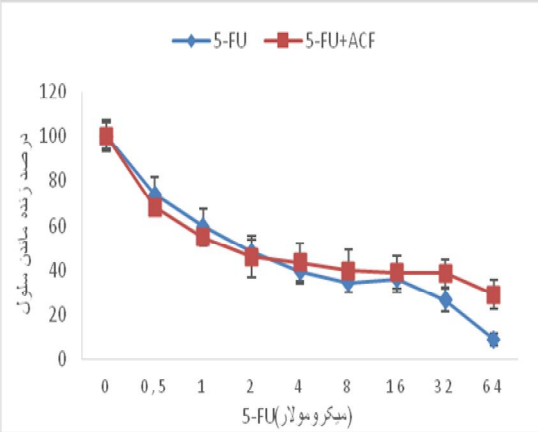
منحنی درصد زنده ماندن رده‌های سلولی سرطان کولورکتال زمانی که با داروی 5-FU تیمار شده‌اند در مقایسه با زمانی که 5-FU به صورت تیمار هم زمان با ACF استفاده شده است، در شکل‌های ۳-۱ نشان داده شده است.



شکل ۱. منحنی درصد زنده ماندن سلول‌های SW480 زمانی که با 5-FU یا 5-FU+ACF به صورت هم زمان برای ۷۲ ساعت تیمار شده‌اند.



شکل ۲. منحنی درصد زنده ماندن سلول‌های HCT116 زمانی که با 5-FU یا 5-FU+ACF به صورت هم زمان برای ۷۲ ساعت تیمار شده‌اند.



شکل ۳. منحنی درصد زنده ماندن سلول‌های LS174T زمانی که با 5-FU یا 5-FU+ACF به صورت هم زمان برای ۷۲ ساعت تیمار شده‌اند.

بحث

داروی 5-FU به عنوان اولین خط درمان در بیماران مبتلا به CRC پیشرفته مطرح می‌باشد. با این حال درصد کمی از بیماران به درمان با 5-FU به تنهایی پاسخ می‌دهند. استفاده از 5-FU به همراه داروهای شیمی درمانی جدید توانسته است از طریق افزایش خاصیت ضد سرطانی 5-FU، میزان پاسخ دهی بیماران به دارو را بهبود بخشد(۱۰). با این حال هنوز درصد قابل توجهی از بیماران CRC به پروتکل‌های شیمی درمانی رایج پاسخ نمی‌دهند(۷). در مطالعه حاضر با هدف افزایش خاصیت ضد سرطانی 5-FU و طراحی و مطرح ساختن یک پروتکل شیمی درمانی جدید، تأثیر ترکیب هم زمان ACF با 5-FU بر میزان مرگ و میر رده‌های سلولی سرطان کولورکتال مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که داروی ACF بر هر سه رده سلولی سرطان کولورکتال (SW480، HCT116 و LS174T) دارای اثر سیتوتوکسیک است و باعث درصد متفاوتی از مرگ و میر در آن‌ها می‌شود به گونه‌ای که LS174T حساس‌ترین سلول و SW480 مقاوم‌ترین رده سلولی می‌باشد(جدول ۱). تیمار سلول‌ها با غلظت‌های متفاوت 5-FU نیز نتیجه مشابهی در بر داشت و دارو بیشترین میزان مرگ و میر را در LS174T و کمترین میزان مرگ را در سلول SW480 ایجاد نمود(جدول ۲). در مطالعات پیشین تأثیر داروهای ACF و 5-FU بر این رده‌های سلولی سرطان کولورکتال مورد مطالعه قرار نگرفته و مقادیر IC50 این داروها نیز گزارش نشده است.

حسن و همکاران نشان دادند که ACF به درون سلول‌های سرطان کولورکتال نفوذ می‌کند و می‌تواند از طریق مهار فعالیت آنزیم‌های توپوایزومراز ۱ و ۲ باعث مرگ و میر آن‌ها شود(۱۱). در مطالعه دیگری مشخص شد که درمان با ACF پیشرفت کولیت مرتبط با سرطان کولون را در موش‌های ایمن شده متوقف می‌کند و منجر به کاهش تعداد، اندازه و توسعه تومور می‌شود(۱۶). در مطالعه دیگری فن و همکاران نشان دادند که ACF سطح بیان Bcl2 و Bax2 را در سلول‌های استئوسارکوم تغییر می‌دهد و تکثیر

سلولی را در این سلول‌ها مهار می‌کند(۱۷). در مطالعه آن‌ها مرگ سلولی ناشی از ACF به القای هر دو مسیر آپوپتوز و اتوفاژی نسبت داده شد(۱۷).

عوامل مختلفی پاسخ دهی سلول‌ها در مقابل داروهای ضد سرطانی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. سلول‌های SW480 به طور طبیعی پروتئین P53 را به مقدار زیاد بیان می‌کنند، در حالی که سلول‌های LS174T اصلا پروتئین P53 را بیان نمی‌کنند(۱۸). این احتمال وجود دارد که افزایش بیان پروتئین P53 در افزایش مقاومت سلول‌های SW480 در مقابل داروهای 5-FU و ACF نقش داشته باشد. مطالعات زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد افزایش بیان P53 باعث افزایش مقاومت در مقابل داروهای شیمی درمانی می‌گردد(۱۹، ۲۰).

در بخش دیگری از مطالعه به منظور ارزیابی تاثیر داروی ACF بر خاصیت ضد سرطانی 5-FU (به عنوان داروی رایج شیمی درمانی)، سلول‌ها با غلظت‌های متفاوت 5-FU و غلظت پایینی از ACF به صورت هم‌زمان برای ۷۲ ساعت تیمار شدند. نتایج نشان داد که تیمار هم‌زمان 5-FU و ACF نمی‌تواند حساسیت سلول‌ها به 5-FU را در مقایسه با زمانی که 5-FU به تنهایی استفاده می‌شد، افزایش دهد. به عبارتی، خاصیت ضد سرطانی 5-FU نه تنها در حضور ACF افزایش نیافت، بلکه میزان IC50 داروی 5-FU در هر سه رده سلولی به طور غیر قابل انتظار افزایش نیز یافته بود. البته این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبود(جدول ۲).

یین و همکاران در مقاله‌ای که به تازگی منتشر نموده‌اند، نشان دادند که استفاده هم‌زمان از ACF و سانیتینیب، رشد تومور را در مدل‌های موشی سرطان سینه در مقایسه با زمانی که سانیتینیب به تنهایی مورد استفاده قرار می‌گیرد با شدت بیشتری کاهش می‌دهد(۲۱). آن‌ها اظهار کردند که ACF خاصیت ضد سرطانی داروی سانیتینیب را افزایش می‌دهد و این دو دارو دارای اثر سینرژیستی هستند(۲۱). در مطالعه دیگری استفاده از ACF در مدل‌های حیوانی باعث حساس‌تر شدن تومور سرطان کولورکتال در مقابل پرتو درمانی شد و رشد تومور در مقایسه با زمانی که پرتو درمانی به تنهایی صورت گرفته بود، باشدت بیشتری کاهش یافت(۲۲). از این رو، این محققان استفاده از ACF را به عنوان ادجونت در پرتو درمانی سرطان کولورکتال پیشنهاد دادند(۲۲). با این حال تاکنون تأثیر تیمار هم زمان ACF با داروی رایج شیمی درمانی سرطان کولورکتال یعنی 5-FU در هیچ مطالعه‌ای مورد بررسی قرار نگرفته بود.

شاید یکی از دلایلی که در مطالعه حاضر ACF نتوانست خاصیت ضد سرطانی داروی 5-FU را افزایش دهد، غلظت بسیار کم آن (IC30) باشد. از این رو تیمار با غلظت‌های بالاتر 5-FU ، گنجاندن محدوده‌های زمانی متفاوت و استفاده از سلول‌های دیگر رده سرطان کولورکتال و نیز استفاده از مدل‌های موشی سرطان کولورکتال در مطالعات آینده مد نظر است تا شاید بهتر بتوان تأثیر ACF بر حساسیت سلول‌ها در مقابل 5-FU را مشخص نمود.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که داروی ACF بر هر سه رده سلول‌های سرطان کولورکتال (LS174T، HCT116 و SW480) دارای اثر سیتوتوکسیک بوده و باعث مرگ و میر آن‌ها می‌شود. با این حال استفاده هم‌زمان از ACF و 5-FU نمی‌تواند خاصیت ضد سرطانی داروی 5-FU را در این رده‌های سلولی در طی ۷۲ ساعت تیمار بهبود بخشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه خانم پریسا زرگر دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی است که هزینه آن توسط معاونت محترم تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان تأمین شده است. نویسندگان از پرسنل محترم مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان تشکر و قدردانی می‌نماید.

منابع

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA: a cancer journal for clinicians. 2011; 61(2):69-90.

2. Kim JH. Chemotherapy for colorectal cancer in the elderly. World journal of gastroenterology: WJG. 2015; 21(17):5158-9.
3. Pourhoseingholi MA, Zali MR. Colorectal cancer screening: Time for action in Iran. World J Gastrointest Oncol. 2012; 4(4):82-3.
4. Stintzing S. Management of colorectal cancer. F1000prime reports. 2014; 6:108-9.
5. Aschele C, Bergamo F, Lonardi S. Chemotherapy for operable and advanced colorectal cancer. Cancer treatment reviews. 2009; 35(6):509-16.
6. Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. Nature Reviews Cancer. 2003; 3(5): 330-8.
7. Wils J, O'Dwyer P, Labianca R. Adjuvant treatment of colorectal cancer at the turn of the century: European and US perspectives. Annals of oncology. 2001; 12(1):13-22.
8. Zhang N, Yin Y, Xu S-J, Chen W-S. 5-Fluorouracil: mechanisms of resistance and reversal strategies. Molecules. 2008; 13(8): 1551-69.
9. Eftekhar E, Naghibalhossaini F. Carcinoembryonic antigen expression level as a predictive factor for response to 5-fluorouracil in colorectal cancer. Molecular biology reports. 2014; 41(1):459-66.
10. Meyerhardt JA, Mayer RJ. Systemic therapy for colorectal cancer. New England Journal of Medicine. 2005; 352(5):476-87.
11.. Hassan S, Laryea D, Mahteme H, Felth J, Fryknäs M, Fayad W, et al. Novel activity of acriflavine against colorectal cancer tumor cells. Cancer science. 2011; 102(12):2206-13.
12. Lee C-J, Yue C-H, Lin Y-Y, Wu J-C, Liu J-Y. Antitumor Activity of Acriflavine in Human Hepatocellular Carcinoma Cells. Anticancer research. 2014; 34(7):3549-56.
13. Li C-Q, Yu T, Zuo X-L, Xie X-J, Li W-B, Chu C-L, et al. Effects on confocal laser endomicroscopy image quality by different acriflavine concentrations. Journal of interventional gastroenterology. 2011; 1(2):59-63.
14. Lee C-J, Yue C-H, Lin Y-J, Lin Y-Y, Kao S-H, Liu J-Y, et al. Antitumor activity of acriflavine in lung adenocarcinoma cell line A549. Anticancer research. 2014; 34(11):6467-72.
15. Hashemi M, Ghavami S, Eshraghi M, Booy EP, Los M. Cytotoxic effects of intra and extracellular zinc chelation on human breast cancer cells. European journal of pharmacology. 2007; 557(1):9-19.
16. Shay JE, Imtiyaz HZ, Sivanand S, Durham AC, Skuli N, Hsu S, et al. Inhibition of hypoxia-inducible factors limits tumor progression in a mouse model of colorectal cancer. Carcinogenesis. 2014; 35(5):1067-77.
17. Fan J, Yang X, Bi Z. Acriflavine suppresses the growth of human osteosarcoma cells through apoptosis and autophagy. Tumor Biology. 2014; 35(10):9571-6.
18. Rodrigues NR, Rowan A, Smith M, Kerr IB, Bodmer WF, Gannon JV, et al. p53 mutations in colorectal cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1990; 87(19): 7555-9.
19. Guo X-l, Hu F, Zhang S-s, Zhao Q-d, Zong C, Ye F, et al. Inhibition of p53 increases chemosensitivity to 5-FU in nutrient-deprived hepatocarcinoma cells by suppressing autophagy. Cancer letters. 2014; 346(2):278-84.
20. Liang JT, Huang KC, Cheng YM, Hsu HC, Cheng AL, Hsu CH, et al. P53 overexpression predicts poor chemosensitivity to high□dose 5□fluorouracil plus leucovorin chemotherapy for stage IV colorectal cancers after palliative bowel resection. International journal of cancer. 2002; 97(4):451-7.
21. Yin T, He S, Shen G, Wang Y. HIF-1 Dimerization Inhibitor Acriflavine Enhances Antitumor Activity of Sunitinib in Breast Cancer Model. Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics. 2015; 22(3):139-45.
22. Lim M-J, Ahn J-Y, Han Y, Yu C-h, Kim M-H, Lim D-S, et al. Acriflavine enhances radiosensitivity of colon cancer cells through endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis. The international journal of biochemistry & cell biology. 2012;44(8):1214-22.