جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۱ ، شماره ۲ ، تابستان ۱۳۸۵
صفحات: ۱۳۵ - ۱۴۱

اثر هم افزایی سیتوکین‌ها و اینترفرون گاما و ویتامین D3 بر تمایز سلولهای لوسمیک تحت درمان با داروهای سیتوتوکسیک

فرهاد ذاکر* Ph.D. ، جعفر صالحیان‌عمران** M.Sc. ، مسعود سلیمانی✍ Ph.D.

چکیـده

هدف: اثر هم افزایی سیتوکین‌ها و اینترفرون گاما و ویتامین D3 بر تمایز سلولهای لوسمیک تحت درمان با داروهای سیتوتوکسیک.

روش بررسی: سلولهای رده HL_{60} به عنوان مدل لوسمی حاد پرومیلوسیتی به مدت ۵ روز در معرض غلظت‌های مشخص از داروها و سیتوکین‌ها شامل فاکتور رشد گرانولوسیتی مونوسیتـــی (GM-CSF) و اینترفرون گاما (INF-γ)، ویتامین D3 (Vit-D3) و داروهای سیتوتوکسیک سیتوزین آرابینوزاید (Ara-c) و وین‌کریستین (VIN) به صورت تنها و ترکیبی قرار گرفتند. جهت بررسی تکثیر و تمایز سلولی از شمارش سلولی، رنگ‌آمیزی رایت و پراکسیداز و آزمون احیای NBT استفاده شد. بروز آنتی ژنهای CD_{11b}، CD_{14} وCD_{45} با استفاده از آنتی‌بادی مونوکلونال به روش فلوسیتومتری انجام شد.

یافته‌ها: در غلظت‌های توکسیک، کاهش تکثیر سلولی در تمامی داروها به تنهایی و در ترکیب با Vit-D3 مشاهده شد. بیشترین کاهش در ترکیب Vit-D3 توأم با سیتـــوکینها و داروهای سیتوتوکسیک مشاهده گردید (P<۰/۰۵). تمامی داروها به صورت تنها و ترکیبی با Vit-D3 اثر تمایزی روی سلولها داشتند (P<۰/۰۵) به جز وین کریستین که بصورت تنها اثر تمایزی نداشت. حداکثر تمایز سلولی در سلولهای تحت درمان با Vit-D3 وسیتوکینها با یا بدون استفاده از داروهای سیتوتوکسیک از نظر مرفولوژی، درصد NBT و بروز آنتی ژن CD11b به سمت رده نوتروفیلی مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: مشاهدات نشان داد که ترکیب سیتوکین‌ها به همراه Vit-D3 در افزایش تمایز سلولهای لوسمیک موثر بوده است. ضمناً ترکیب داروهای سیتوتوکسیک در غلظت مطلوب با سیتوکین‌ها وVit-D3 نه تنها از شدت تمایز نمی‌کاهد بلکه کاهش پرولیفراسیون سلولی را تشدید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: لوسمی حاد پرومیلوسیتی، تمایز درمانی، ویتامین D3، سیتوکین‌ها، داروهای سیتوتوکسیک.

دریافت مقاله: ۸۳/۵/۴، اصلاح مقاله: ۸۵/۴/۶، پذیرش مقاله: ۸۵/۵/۲۳

✍ استادیار گروه هماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران ـایران
* مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
** آزمایشگاه بیمارستان شریعتی، دانشگاه علوم‌پزشکی تهران
آدرس پست الکترونیکی: Soleim_m@modares.ac.ir

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقـدمـه

لوسمی حاد از جمله نوع پرومیلوسیتی جزء بیماریهای بدخیم خونی می‌باشد. در این بیماری ابتدا اختلال در سلولهای پیش‌ساز خونی به وجود می‌آید و باعث ناهنجاری در عملکرد سایر اعضای بدن نیز می‌گردد و در نهایت عوارض بسیار وخیمی در بیمار ایجاد می‌نماید. تکثیر زیاد و غیر قابل کنترل سلولهای خونساز اولیه در مغز استخوان همراه با عدم تمایز این سلولها به رده بالغ، باعث تجمع فراوان سلولهای بلاست بدخیم در مغز استخوان و در نهایت خون می‌شود. (۱)

از برنامه‌های درمانی که تا به امروز مورد استفاده قرار گرفته است، شیمی‌درمانی و پرتودرمانـــی می‌باشند. از داروهای سیتوتوکسیک به منظور از بین بردن سلولهای بدخیم در طیف وسیعی استفاده می‌شود، اما مهمترین نقص این روش از بین رفتن درصد زیادی از سلولهای سالم خونساز به همراه سلولهای بدخیم می‌باشد. همچنین اثرات جانبی این داروها بر روی بافت‌های مختلف دیگر نیز مطرح می‌باشد؛ ضمن اینکه پس از بهبودی بیمار، به جهت حضور مخفی کلون بدخیم، عود مجدد بیماری مطرح است و سلولهای بدخیم باقیمانده مجدداً تکثیر می‌یابند. (۲،۳) در سالهای اخیر تحقیقات گسترده‌ای جهت یافتن داروهایی که بتوانند به جای از بین بردن سلولهای بدخیم، باعث تکثیر و تمایز آنها به سمت رده بالغ بشوند، انجام شده است. روش دیفرانسیاسیون تراپی یا تمایز درمانی در دهه اخیر مورد توجه و استفاده فراوانی قرار گرفته است. از جمله مواد مورد استفاده در این روش، می‌توان به مشتقات ویتامین A و ویتامین D و همچنین سیتوکین‌ها همانند اینترلوکین‌ها، اینترفرونها، فاکتورهای رشد و غیره همراه با داروهای سیتوتوکسیک و با استفاده از اشعه درمانی که به صورت ترکیب درمانی مورد استفاده قرار گـــرفته انـــد (۴-۶) اشاره کرد در حال حاضر درمان موفقیت‌آمیز لوسمی حاد پرومیلوسیتی و دیگر انواع لوسمی حاد با استفاده از عوامل تمایزدهنده و داروهای ایجاد کننده مرگ سلولی یا Apoptosis، مسیرهای نوینی را در تحقیقات بیولوژیک و مولکولی در شناخت و درمان لوسمی‌ها گشوده است. (۷-۱۰)

در دهه‌های اخیر با تهیه رده‌های سلولی مختلف لوسمیک، استفاده از کشت سلول در محیط خارج بدن، مشاهده تأثیر انواع داروها و بررسی سلولها از لحاظ تغییرات در ساختار سلولی و مولکولی آنها، مطالعات در زمینه لوسمی‌ها رو به افزایش است. در این تحقیق نیز با استفاده از رده سلولی HL60 به عنوان مدل لوسمی حاد پرومیلوسیتی، تأثیر داروها و ویتامین D3 و سیتوکین‌های اینترفرون گاما (IFN-γ) و فاکتور رشد گرانولوسیتی-مونوسیتی (GM-CSF) و داروهای سیتوتوکسیک شامل وین کریستین و سیتوزین آرابینوزید به تنهایی و به صورت ترکیب مورد بررسی قرار گرفته و شاخص‌های تکثیر و تمایز سلولی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

روش بررسی

کشت سلولی و اثر داروهای مختلف . رده سلولی HL_{60} توسط دکتر ذاکر هدیه شد و در فلاسک کشت سلول با حجم ۲۵ میلی لیتر در محیط کشت RPMI (Sigma) حاوی ۱۰٪ سرم گوساله جنینی (FBS, Gibco) به همراه آنتـــــــیبیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین (Sigma) در فشار ۵٪ Co2 کشت داده شد. داروهای مورد نظر در رقت‌های مختلف تهیه شد و سپس در چاهک‌های پلیت کشت سلول حاوی سوسپانسیون سلولی که در هر میلی لیتر از محیط کشت شامل $۱۰^{۵}$سلول بودند، به تنهایی و به صورت ترکیب همراه با گروه کنترل بدون دارو، در غلظت‌های مشخص به مدت ۵ روز اثر داده شدند. غلظت داروها پس از آزمایشات مختلف و بهینه کردن شرایط کشت به دست آمد:

Vit-D3= $۱۰^{-۷}$ مول (Sigma) و CSF-GM=۱۰۰ نانوگرم در میلی لیتر (Novartis)

IFN-γ=۱۰۰۰ واحد در میلی لیتر (Imukin) و Vincristin(VIN)= ۰/۰۰۲ میکروگرم در لیتر (Richter)

Cytosine Arabinoside(Ara-C)= ۰/۰۰۰۱ میکروگرم در میلی لیتر (Pharmacia)

شمارش سلولی با استفاده از لام نئوبار انجام گردید و همچنین درصد سلولهای زنده با استفاده از رنگ تریپان‌بلو (Merck) تعیین شد. از غلظت‌های غیر سیتوتوکسیک داروها در آزمون‌ها استفاده شد.

بررسی مرفولوژی و رنگ آمیزی سلولها . پس از اثر داروها به مدت ۵ روز، از سوسپانسیون سلولی گروه کنترل و سایر چاهک‌های حاوی سلول که در آن دارو تأثیر داده شده بود، نمونه‌برداری شد و توسط دستگاه سیتو اسپین (Shandon) از آنها

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

گستره سلولی تهیه شد. سپس لامها با استفاده از رنگ رایت گیمسا (Merck) و رنگ پراکسیداز (Sigma) رنگ‌آمیزی شدند تا تغییرات مرفولوژی سلولها به سمت سلولهای بالغ نوتروفیل یا مونوسیتی و اثر تمایزی داروها بررسی گردد. سلولهای HL_{60} در محیط کشت بدون تأثیر دارو عمدتاً از پرومیلوسیت و تعداد کمی میلوبلاست تشکیل شده است.

آزمایش احیای NBT: Nitro blue tetrazolium . به منظور سنجش تمایز سلولهای مجاور شده با ترکیبات دارویی و ارزیابی مرحله‌ای فاگوسیتوز، از آزمایش فوق استفاده شد. پس از تأثیر دارو به مدت ۵ روز، ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی در لوله آزمایش ریخته شد و هم حجم آن محلول تازه (Sigma) NBT ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به لوله اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. در این مدت سلولهای تمایز یافته، پس از شروع مسیر متابولیکی شده زرد رنگ هگزوز منو فسفات می‌توانند NBT بلع و شفاف را به ماده‌ای آبی رنگ به نام فورمازان تبدیل نمایند. سپس تعداد سلولهای رنگ گرفته شمرده شده، درصد آنها گزارش می‌شود.

بررسی شاخص‌های سلولی . با استفاده از دستگاه فلوسیتومتری (Becton Dickinson) و آنتی‌بادی‌های منوکلونال بر علیه شاخص‌های سلولی CD_{11b}، CD_{14}، CD_{45} (DAKO) جمعیت سلولی از لحاظ دارا بودن این شاخص‌های تمایزی پس از تأثیر داروها در ۵ روز، در مقایسه با گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفت. بروز CD_{llb} شاخص تمایز نوتروفیلی، CD_{14} شاخص تمایز مونوسیتی و CD_{45} شاخص تمایز لکوسیتی است. ابتدا لوله‌های حاوی یک میلی‌لیتر سوسپانسیون سلولی که در مجاورت داروهای مورد نظر قرار گرفته بودند را سانتریفوژ کرده، پس از دور ریختن محلول رویی دو بار شستشو با بافر فسفات انجام گردید. در انتها به رسوب سلولی ۱۰ میکرولیتر آنتی‌بادی منوکلونال بر علیه شاخص‌های فوق اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه انکوبه گردید. پس از انکوباسیون، دو بار شستشو با بافر فسفات انجام شد و در پایان یک میلی‌لیتر بافر به آن اضافه و به آرامی تکان داده شد تا سوسپانسیون یکنواخت سلولی ایجاد شود. نمونه آماده به دستگاه داده شد و شدت فلورسانت اندازه‌گیری گردید.

محاسبات آماری . داده‌ها پس از جمع‌آوری و دسته‌بندی توسط نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. در این تحقیق اعداد p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافتــه‌هــا

اثرات داروها به تنهایی از نظر تکثیر و تمایز. در تأثیر داروها به تنهایی با توجه به جدول ۱ بیشترین تغییرات مرفولوژیک، در سلول پراکسیداز مثبت و سلول NBT مثبت مربوط به ویتامین D3 می‌باشد که به سمت بلوغ نوتروفیلی است. از سیتوکین‌ها GM-CSF و از داروهای سیتوتوکسیک، سیتوزین آرابینوزید بیشترین تمایز را نشان دادند که در مقایسه با کنترل معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). وین‌کریستین فاقد تمایز بود و سلولهای تحت تأثیر اینترفرون گاما تمایز مونوسیتی را نشان دادند. تمام داروها باعث کاهش تکثیر سلولی نسبت به گروه کنترل شدند که شدت این کاهش در ویتامین D3 بیشتر بود (P<۰/۰۵) و درصد سلولهای زنده خوب بود.

اثرات داروها به صورت ترکیبی از نظر تکثیر و تمایز. در تأثیر داروها به صورت ترکیبی با توجه به جدول ۲ بیشترین تغییرات مرفولوژیک در سلول پراکسیداز و سلول NBT مثبت مربوط به ترکیب سه داروی Vit-D3، IFN-γ، GM-SF بود که نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌دار نشان داد. (P<۰/۰۵) ترکیب سه داروی فوق به همراه داروهای سیتوتوکسیک با تمایز نیز همراه بود. در ترکیب داروها همچنین کاهش تکثیر سلولی نسبت به کنترل مشاهده گردید که بیشترین کاهش در مورد ترکیبات چهار دارویی یعنی همراه با داروهای سیتوتوکسیک بود. (P<۰/۰۵) در بررسی دقیق مرفولوژیکی با توجه به جدول ۳ بیشترین اثر تمایزی در ترکیب سه دارویی Vit-D3، IFN-γ و GM-CSF مشاهده گردید که انواع سلولهای تمایز یافته به تفکیک ذکر شده است. ترکیب داروهای فوق با داروهای سیتوتوکسیک نتایج یکسان داشت. تغییرات مرفولوژیک، بلوغ سلولها را به سمت رده نوتروفیلی نشان داد که بیشترین سلولهای بالغ به ترتیب سلولهای نوتروفیلی باند، متامیلوسیت و میلوسیت بودند.

جدول ۱:-مقایسه شمارش سلولی، تغییرات مرفولوژیک، پراکسیداز و NBT مثبت داروها به تنهایی در مقایسه با گروه کنترل پس از ۵ روز در سلولهای HL_{60}.

دارو	تعداد سلول در هر میلی‌لیتر	تغییرات مرفولوژیک	سلول NBT مثبت	سلول پراکسیداز مثبت
کنترل	۱۶۰×۱۰^۴	۴	۱	۳
ویتامین D3	۱۱۰×۱۰^۴	۱۵	۹	۱۰
گاما اینترفرون	۱۲۰×۱۰^۴	۸	۴	۶
فاکتور رشد گرانولوسیتی- مونوسیتی	۹۰×۱۰^۴	۳۰	۱۴	۴
سیتوزین آرابینوزید	۱۱۰×۱۰^۴	۳۵	۲۷	۲۳
وین کریسیتین	۸۵×۱۰^۴	۸۷	۴۰	۵۵

جدول ۲: مقایسه شمارش سلولی، تغییرات مرفولوژیک، پراکسیداز وNBT مثبت داروها به صورت ترکیبی با گروه کنترل پس از ۵ روز در سلولهای HL_{60}.

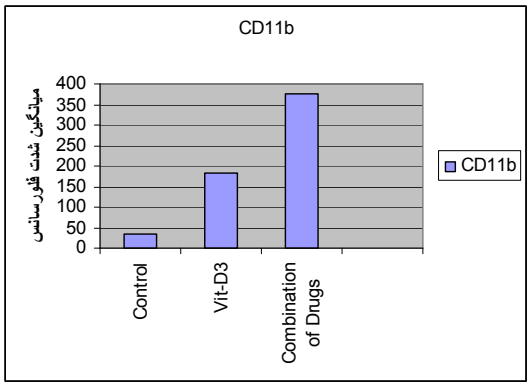
دارو	تعداد سلول در میلی‌لیتر	تغییرات مرفولوژیک تعداد ۱۰۰ سلول	سلولNBT مثبت	سلول پراکسیداز مثبت
Control	۱۶۰×۱۰^۴	۴	۱	۳
IFN-γ،Vit-D3	۸۵×۱۰^۴	۸۵	۴۷	۵۸
Vit-D3 +GM-CSF	۱۱۵×۱۰^۴	۹۳	۵۰	۶۳
IFN-γ،Vit-D3 و GM-CSF	۱۲۰×۱۰^۴	۹۸	۹۲	۹۵
Ara-C، Vit-D3، GM-CSF و IFN-γ	۱۰۵×۱۰^۴	۹۴	۸۶	۸۹
Vin و IFN-γ، Vit-D3، GM-CSF	۱۰۰×۱۰^۴	۹۳	۸۳	۸۷

جدول ۳: مقایسه تمایز مرفولوژیک سلولهای درمان شده با دارو به صورت تنها و ترکیبی با گروه کنترل پس از ۵ روز در سلولهای HL_{60}.

	نوع سلول میلوئیدی (درصد از کل سلولها)				
دارو	میلوبلاست	پرومیلوسیت	میلوسیت	متامیلوسیت	باند سل	نوتروفیل
Control	۵	۹۳	۲	–	–	–
Vit-D3	۳	۱۱	۱۶	۴۰	۲۴	۶
IFN-γ، Vit-D3	۲	۲	۱۵	۴۲	۳۰	۹
Vit-D3، GM-CSF	۲	۲	۱۲	۳۲	۳۷	۱۵
IFN-γ، Vit-D3، GM-CSF	۱	۱	۳	۱۷	۳۰	۴۸
IFN-γوVit-D3، Ara-c، GM-CSF	۱	۲	۴	۱۷	۲۹	۴۷
IFN-γ،Vit-D3 ، GM-CSF	۱	۳	۷	۱۸	۲۶	۴۵

اثرات داروها از نظر شاخص‌های سلولی. از آن جایی که بیشترین تمایز سلول در ترکیب IFN-γ، Vit-D3، GM-CSF مشاهده شد، با استفاده از فلوسیتومتری که روش کمی می‌باشد، میزان بروز شاخص‌های CD_{IIb} و CD_{14} و CD_{45} بررسی شد.

میانگین فلورسانت CD_{11b} در سلولها با استفاده از Vit-D3 به تنهایی ۱۸۱/۵ بود، اما میانگین فلورسانت سلولها بدون تأثیر داروها از نظر CD_{45}، CD_{14} و CD_{IIb} به ترتیب ۳۳، ۳۱، ۱۳۱ بود. میانگین فلورسانت در سلولها در ترکیب داروهای فوق افزایش CD_{IIb} را تا حدود ۳۷۶ نشان داد که مبین بروز بیش از ۱۰ برابر شاخص رده گرانولوسیتی (نوتروفیلی) نسبت به کنترل می‌باشد و با تغییرات مرفولوژیک تطابق داشـــت. میزان فلورسانت CD_{14} تغییرات جزئی از خود نشان داد که مبین عدم تمایز مونوسیتی است (نمودار ۱).



نمودار ۱: مقایسه میانگین شدت فلورسانس CD_{11b} در سلولهای درمان شده با ویتامین D3 به تنهایی و در ترکیب با داروهای GM-CSF و IFN-γ

بحـــث

در لوسمی حاد تکثیر و بلوغ سلولی دچار اختلال شده که مرتبط با تغییرات ژنتیکی تنظیم کننده رشد و تکامل سلولی می‌باشد. استفاده از شیمی‌درمانی گرچه میزان بهبودی را افزایش داده است، اما اثرات جانبی کلینیکی به خصوص در بیماران مسن‌تر را باعث شده است. در اکثر موارد سلولهای مقاوم به درمان ایجاد شده و عود بیماری را سبب می‌شود. بنابراین درمانهای جدید بر اساس پاتوژنز بدخیمی و مولکولهای هدف که موثر در تکثیر و تمایز سلولی هستند مورد توجه در سالهای اخیر قرار گرفته است. تمایز درمانی روشی جدید در جهت القاء تمایز در سلولهای بلاست بدخیم می‌باشد. نقش دیگر تمایز درمانی، کاربرد وسیع آن در ترکیب درمانی می‌باشد. تمایز درمانی همراه با شیمی درمانی، ایمنی تراپی و ژن درمانی برنامه‌های جدید در درمان لوسمی حاد می‌باشند. (۱-۳)

در این تحقیق ویتامین D3 بیشترین تمایز سلولی را در سلولهای لوسمیک HL60 به سمت رده بالغ نتروفیلی نشان داد. مکانیسم اثر آن از طریق کاهش پروتئین (PML/RAR) در سلولهای سرطانی است. اخیراً از ترکیبات ارسنیک با مکانیسم توقف رشد و القاء آپوتیوز در سلولهای بدخیم بیماران لوسمی‌های پرومیلوسیتی استفاده می‌شود که یکی از مکانیسم اثر آن مشابه اثر ویتامین D3 و ATRA می‌باشد. (۸، ۱۱-۱۳)

سیتوکینها از تنظیم کننده‌های بیولوژیک هستند و GM-CSF تمایز نتروفیلی و اینترفرون گاما تمایز مونوسیتی از خود نشان داد. این نتاج با آنچه قبلاً مستقیماً روی سلولهای بلاست لوسمیک بیماران گزارش شده است انطباق دارد. (۱۴،۲۰) از داروهای سیتوتوکسیک فقط سیتوزین آرابینوزاید تمایز نتروفیلی نشان داد و وینکریسین اثری از خود نشان نداد. مکانیسم احتمالی سیتوزین ارابینوزید روی سلولهای بدخیم بصورت بازدارنده سنتز DNA است و سلولهای فاز S را از میان می‌برد و وین‌کریستین در عدم تشکیل دوک متیوتیک شرکت دارد. در گزارش قبلی سیتوزین آرابینوزید در تمایز سلولهای لوسمیک میلومونوسیتی به سمت رده مونوسیت موثر بوده است که مبین اثرات متفاوت این ماده برحسب نوع سلولهای لوسمیک است. (۱۷،۱۸) ترکیب ویتامین D3 و سیتوکین‌ها بیشترین تمایز سلولی را به سمت رده نتروفیلی شامل سلولهای نتروفیل و باند و افزایش NBT و میلوپراکسیداز نشان داد و این نتیجه مبین آن است که تاثیر آن بر اینترفرون گاما غالب بوده است و از تمایز مونوسیتی جلوگیری به عمل آورده است. در مطالعات قبلی تاثیر تقویتی سیتوکین‌ها و اینترفرون بطور مجزا همراه ویتامین D3 و اسید رتینوئیک در ایجاد تمایز سلولهای سرطانی مختلف مانند U937 و Hl60 به اثبات رسیده است (۱۴،۲۰) که مطالعه حاضر را تائید می‌کند. در بررسی شاخص‌های سطح سلولی با فلوسیتومتری ترکیب ویتامین D3 و سیتوکین‌ها با بروز زیادی از شاخص CDllb در تمایز سلولهای Hl60 همراه بود. این رده سلولی در اثر تمایز شاخص سلولی CD13 را تاحد زیادی از دست می‌دهد و برحسب نوع ماده

تمایز دهنده شاخص‌های جدیدی را بدست می‌آورد. مثلاً اینترفرون گاما باعث تمایز مونوسیتی و افزایش CD14 می‌شود. (۸،۱۵) ترکیب داروهای سیتوتوکسیک با داروهای فوق اثر منفی تمایز نداشته و نتایج مشابهی را از نظر تمایز ایجاد نمودند و حتی تکثیر سلولی را کاهش بیشتری داد، بطورکلی کاهش تکثیر سلولی یکی از عوامل مورد نیاز جهت تمایز سلولی می‌باشد، اما به تنهائی کافی نیست چنانکه در وینکریستین تمایز سلولی مشاهده نشد اما از تکثیر سلولی کاسته شده بود. البته در بعضی از رده‌های سلولی مانند سلولهای اریترولوسمیک Friend تکثیر سلولی با تمایز همراه است. پس علاوه‌بر ژنهای مرتبط با تکثیر سلولی عوامل ژنتیکی دیگری در ارتباط با تمایز سلولی اهمیت دارند. (۱۶) در مطالعات دیگری همراهی ATRA و شیمی درمانی نسبت به ATRA به تنهائی سودمند بوده است. (۵،۱۷،۱۸) همچنین استفاده از داروهای ضدسرطان و سیتوکین‌های مانند اینترفرون در تمایز سلولهای Hl60 مفید واقع شده است. (۱۹،۲۰)

بطور کلی پروسه این مدل سلولی به سمت تمایز همراه با کاهش تکثیر سلولی و آشکارشدن شاخصهای تمایز میلوئیدی می‌باشد که در سطح مولکولی احتمالاً با تغییراتی در سطح فاکتورهای نسخه‌برداری و ژنهای مرتبط با سیکل سلولی همراه است. (مانند Myb,Myc,...) چنانکه در مورد ATRA و ماده تمایزدهنده دیگر بنام HMBA به اثبات رسیده است. (۲۱،۲۲) در مطالعه حاضر ترکیب ویتامین D3 ، سیتوکینها داروهای سیتوتوکسیک در غلظت غیرکشنده با اثرات هم‌افزایی حداکثر تمایز سلولی را با کاهش تکثیر سلولی نشان دادند این نتایج گواه بر آن است که ترکیب درمانی از روشهای مؤثر در درمان لوسمی‌ها می‌باشد که نیازمند مطالعات بیشتری در این زمینه می‌باشد.

تقدیر و تشکر. از مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران و دانشگاه تربیت مدرس جهت همکاری لازم تشکر می‌شود.

References

1. Tallman MS, Nabhan Feusner JH, Row JM. Acute Promyelocytic leukemia, evolving theraputic Strategies. Blood 2002; 99: 759-779.

2. Waxman S. Differentiation therapy in AML. Leukemia 2000; 14(3): 491-496.

3. James SY, William MA, Newland AC, Colston KW. Leukemia Cell differentiation. Gen Pharmacol 1999; 32(1): 143-154.

4. Neildez-Ngnyen T, Chapel A, Arock M, Vetillard J, Thierry D. Gamma –irradiation does not impair ATRA-induced maturation of myeloid leukemia cells: implication for combined radiation and differentiation therapy. Br J Haematol 1998; 103(1): 79-86.

5. Advani SH, Nair R, Bapna A, Gladstone B, Kadam P. Acute Promyelocytic Leukemia: all-trans retinoid acid (ATRA) along with chemotherapy is superior to ATRA alone. Am J Hematol 1999; 60: 87-93.

6. Muto A, Kizaki M, Kawamura C. A novel differentiation thrapy for APL with a combination of arsenic trioxide and GM-CSF. Leukemia 2001; 15: 1176-1184.

7. Dover D. New advances in the treatment of APL. Int J Hem 2002; 76(supp2): 179-186.

8. Verstuy FA, Mathieu C, Verlinden L, Waer M, Ton BK. Diferentiation induction of human leukemia cells (HL60) by a combination of 1،25 – dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid (All trans or 9-cis). J Steroid Biochem Mol Biol 1995; 53: 431-441.

9. Wallington LA, Durham J, Bunce CM, Brown G. Growth HL60 in liquid culture: Analysis of the influences of differentiative agents. Leukemia Res

1996; 20(10): 821-829.

10. Slack J, Waxman S, Ticot G, Tall-man MS, Bloom-field CD. Advances in the management of APL and other hematologic malignancies with arsenic trioxide ocologist 2001; (sipp1): 1-13.

11. Zhu Jlallemanal V. de The H. PathWays of RA or Arsenic trioxide–induced PML/RAR catabilism. Oncogene 2001; 20(49): 7257-65.

12. Miller WH, Schipper HM, Lee JS, Singer J, Waxman S. Mechanism of arsenic trioxide. Cancer Res 2002; 62(14): 3893-8.

13. Wang ZG, Rivi R, Delva L, Konig A, Scheinberg DA. Arsenic and melarsoprol induce programmed cell death in myeloid leukemia cell lines and function in a PML and PML-RARα independent manner. Blood 1998; 92(5):1497-1504.

14. Elias L, Van Epps DE. Early effect of G-CSF and GM-CSF upon proliferation and differentiation. Leukaemia 1998; 2(11): 763-765.

15. Razak K, Allen PD, Kelesy SM, Gutteridge CN, Newloud AD. Modulation of CD13 during retinoic acid induced differentiation of HL60 cells. Leukemia Res 1994; 18(8): 626-639.

16. Louaine L، Steren M، Tetra JR. Proliferation is required for induction of differentiation of Friend's cell. Biochem cell Biol 1992. 70: 555-546.

17. Hassan HT, Rees KH. Retinoic acid in combination with cytosine arabinoside induces differentiation of human myelomnocytic and monoblastic leukemic cells. Hemato Onco 1998; 6: 39-45.

18. Leung MF, Wong KF. The differentiating effect of retionic acid and vincristine on AML. J Hematother 1999; 8(3): 275-279.

19. Kafka M, Dvilansky A, Nathan I. Mechanism of interaction between Interferon-γ and antineoplastic agent on the differentiation of HL60 Promyelocytic cells. Exp Hematol 1990; 18(3): 153-158.

20. Chelbi MK, Pelicano L. Retinoic acid and interferon signaling cross talk in normal and RA-resistant APL cells. Leukemia 1999; 13(8): 1167-74.

21. Milis KJ, Walsh V, Gilkes AF, Woodgate LJ. Identification of transcription factors during ATRA–induced neutrophil differentiation of HL60 cells. Br J Haematol 1998; 103(1): 87-92.

22. Zaker F, May Aand Burnet AK. Key regulatory gene expression in erythroleukemia differentiation. Irannian Biomed J 2002; 6(4): 97-103