

بررسی اثر ترکیبی دوز پایین آرسنیک تری اکسید و AZT روی زنده مانی و فعالیت متابولیک رده سلولی NB4

روح الله میرزایی خلیل آبادی^۱، هاجر مردانی ولدانی^۱، داوود بشاش^۱، دکتر ناهید عین الهی^۲،
دکتر کامران علی مقدم^۳، دکتر اردشیر قوام زاده^۴، دکتر سید حمیدالله غفاری^۳

چکیده

زمینه و هدف: لوسمی پرمیلوسیتیک حاد (APL) با $t(15;17)$ شناخته می‌شود. تدابیر درمانی مهم برای این بیماری، استفاده از ATRA و آرسنیک می‌باشد. از بین بردن سلولهای سرطانی نیاز به دوز بالایی از آرسنیک دارد، اما در این دوزها آرسنیک دارای اثرات سمی روی بافت‌های سالم می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر دوز پایین آرسنیک، در ترکیب با داروی AZT بر روی رده سلولی NB4 (رده سلولی APL) می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه بعد از کشت و تکثیر رده سلولی NB4، سلولها با دوز پایین آرسنیک (۰/۵ میکرومولار) و دوز پایین آرسنیک در ترکیب با دوزهای مختلف AZT (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میکرومولار) تیمار شدند و سپس زنده مانی سلولها با تریپان بلو و فعالیت متابولیک سلول با MTT assay بررسی شد.

یافته‌ها: دوز پایین آرسنیک به تنهایی و در ترکیب با دوز ۵۰ میکرومولار AZT، اثر کمی روی زنده مانی و فعالیت متابولیک سلول داشت، اما در ترکیب با دوزهای بالاتر AZT تاثیر قابل توجهی را به نمایش گذاشت و هر دوی زنده مانی و فعالیت متابولیک بطور قابل توجهی کاهش یافتند.

نتیجه گیری: مکانیسمهای القاء کننده آپیتوز، باعث آپیتوز توسط AZT و آرسنیک می‌شوند. از آنجا که بعضی از این مکانیسمها بین AZT و آرسنیک مشابه می‌باشد، لذا احتمالاً مکانیسمهای مشابه باعث اثر تقویتی و کاهش قابل توجه زنده مانی و فعالیت متابولیک در ترکیب دو دارو شده است.

واژه های کلیدی: لوسمی پرمیلوسیتیک حاد، سلول NB4، آرسنیک، AZT

* نویسنده مسئول :

دکتر سید حمید الله غفاری ؛

دانشیار دانشگاه علوم پزشکی تهران

Email :
Shghaffari200@yahoo.com

- دریافت مقاله : خرداد ۸۹ - پذیرش مقاله : آذر ۸۹

مقدمه

APL (Acute Promyelocytic Leukemia) یکی از انواع زیرگروه های AML (Acute Myeloid Leukemia) می‌باشد. در تقسیم بندی گروه FAB (French American-British) به AML-M3 شناخته می‌شود.

^۱ کارشناس ارشد هماتولوژی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۲ دانشیار گروه علوم آزمایشگاهی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۳ دانشیار مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعی دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۴ استاد مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعی دانشگاه علوم پزشکی تهران

در APL مهمترین اختلال سیتوژنتیکی، جابجایی کروموزومی بین کروموزوم های ۱۵ و ۱۷ می‌باشد ($t(15;17)$) (۱-۲). این اختلال منجر به الحاق دو ژن PML و RAR α می‌شود (۱-۲). جابجایی کروموزومی دیگر مثل $t(11;17)$ و $t(5;17)$ فقط در ۲٪ بیماران APL وجود دارد (۱).

$t(15;17)$ در ۹۵٪ افراد APL دیده می‌شود (۳). این بیماری حدود ۱۰-۵٪ موارد AML را شامل می‌شود (۴). APL اولین بار در سال ۱۹۷۵ توسط Hillestad شرح داده شد. او سه بیمار را گزارش کرد

که پرومیلوسیت ها در آنها غالب بودند و تمایل به خونریزی وجود داشت و بعد از چند هفته مردند. در سال ۱۹۷۳ برنارد و همکارانش عنوان کردند که APL به شیمی درمانی با داروی daunorubicin نسبتاً حساس می باشد و باعث بهبودی کامل یا CR (Complete Remission) در ۵۵٪ بیماران می شود (۵). بعد از آن ترکیبی از یک آنتراسیکلین و Ara-C (Cytosine Arabinoside) خط اول درمان APL بود و بهبودی کامل به ۷۵-۸۰٪ در بیماران تشخیص اولیه رسید؛ اگر چه با شیمی درمانی سندرم خونریزی دهنده تشدید و باعث افزایش میزان مرگ و میر شد (۵). در سال ۱۹۸۵، ATRA (All-Trans Retinoic Acid) به عنوان درمان جدید APL معرفی شد (۵). ترکیب ATRA و شیمی درمانی بهبودی کامل را ۹۵-۹۰٪ بالا برد (۵). در اوایل دهه ۱۹۹۰ بکار بردن آرسنیک تری اکساید (ATO) باعث بهبودی بیشتر بیماران مقاوم به درمان و بیماران عود یافته علاوه بر بیماری اولیه APL شد (۵). ترکیب ATRA و ATO باعث کاهش PML-RAR α و بقا بیشتر بیماران با APL اولیه می شود (۱).

تلومراز یک جزء اساسی برای تکثیر سلول های سرطانی است. آنزیم تلومراز مسئول حفظ ساختار تلومر می باشد. تلومرها برای حفظ و پایداری کروموزوم ضروری می باشند، تلومراز در اکثر سلول های سوماتیک نرمال بیان نمی شود و یا میزان بیان آن کم می باشد. این آنزیم در سلول های سرطانی فعال می شود و یکی از مکانیزم های مهم در نامیرا شدن سلول های سرطانی می باشد. از آنجا که تلومراز یک جزء اساسی برای تکثیر سلول های سرطانی است، مهار فعالیت آنزیم تلومراز ممکن است منجر به اثرات ضد توموری شود (۸-۶). ترکیباتی نظیر AZT باعث مهار فعالیت تلومراز می شوند (۶). هر چند درمان APL با ATRA موفقیت آمیز می باشد

اما در بعضی موارد عود مجدد وجود دارد (۹-۸). در مواردی که عود وجود دارد داروی آرسنیک داروی مناسبی می باشد (۹ و ۱). آرسنیک همچنین باعث بهبودی طولانی مدت هم در بیماران مقاوم به داروی ATRA و هم در بیماران پاسخ دهنده به ATRA است (۸). اما آرسنیک در دوزهای پایین به تنهایی نمی تواند باعث آپوپتوز شود و در دوزهای بالا نیز اثر سمی روی بافت های سالم دارد (۱۱-۱۰). همچنین عود مجدد در درمان با آرسنیک نیز در بعضی موارد وجود دارد (۳). با توجه به مشکلات گفته شده در این مطالعه سعی شد اثر دوز پایین آرسنیک را در ترکیب با AZT روی رده سلولی NB4 (مشتق شده از سلول های APL) بررسی شود تا از اثرات مضر دوز بالای آرسنیک و سایر مشکلات آن مثل عدم خاصیت آپپتوتیک در دوز پایین کاسته شود.

روش بررسی

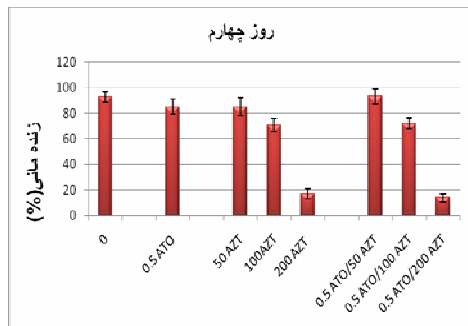
کشت سلول

رده سلولی NB4 (خریداری شده از انستیتو پاستور) در محیط کشت RPMI-1640 با 20% FBS، HEPES، بیکربنات سدیم کشت داده شد. بعد از کشت و تکثیر، سلولها با دوز پایین آرسنیک (۵/۰ میکرومولار) و دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰، ۵۰ میکرومولار AZT و ترکیب اینها قرار گرفتند. در این فاصله سلولها هر ۳ روز تجدید محیط می شدند.

بررسی زنده مانی سلولها با تریپان بلو

برای بررسی زنده مانی، سلولها را سانتریفیوژ، مایع رویی دور ریخته و با اسی سی محیط، پلت سلولی معلق شد. ۱۵-۱۰ μ L از سوسپانسیون سلولی برداشته و به همان میزان TB اضافه و به مدت ۲-۱ دقیقه در دمای اتاق انکوبه تا رنگ جذب سلولهای مرده شود. سپس حدود ۱۳-۱۲ μ L از این سلولها (به میزانی که زیر لامل روی لام نئوبار پر شود) را برای

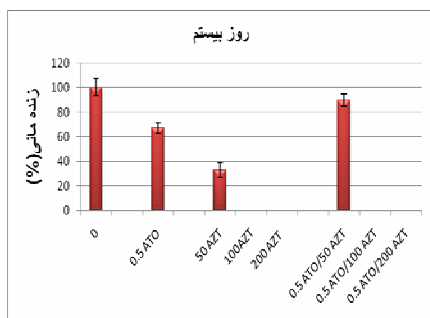
AZT باعث کاهش قابل ملاحظه ای در میزان زنده مانی شده است.



نمودار ۱: زنده مانی سلولهای تیمار شده با دوز ۰/۵

میکرومولار ارسنیک، دوزهای مختلف AZT

و ترکیب این دو دارو در روز چهارم



نمودار ۲: زنده مانی سلولهای تیمار شده با دوز ۰/۵

میکرومولار ارسنیک، دوزهای مختلف AZT در روز بیستم

همانطور که در نمودار ۲ مشاهده می شود ترکیب دوز ۰/۵ ارسنیک با دوزهای بالای AZT (۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) در روز ۲۰ به صفر رسیده است اما دوز ۰/۵ ارسنیک به تنهایی در روز ۲۰ به ۶۷٪ رسیده است.

همچنین ترکیب دوزهای پایین (۰/۵ میکرومولار ارسنیک و ۵۰ میکرومولار AZT) اثر کمی روی زنده مانی دارد. همچنین AZT نیز باعث کاهش زنده مانی شده است و زنده مانی دوزهای بالای آن در روز ۲۰ صفر است.

شمارش سلول برداشته ، با لام نئوبار شمارش و درصد زنده مانی بدست آورده شد.

بررسی فعالیت متابولیک سلولها با MTT assay

۳×۱۰^۳ سلول (در حجم ۱۰۰ میکرولیتر) از سوسپانسیون سلولی برداشته و در چاهکهای پلیت ۹۶ خانه ریخته شد. به آن ۱۰۰ میکرولیتر معرف MTT اضافه و به مدت ۳-۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ ° C و ۵٪ CO₂ قرار داده شد. پس از طی زمان انکوباسیون، پلیت را با دور 350g به مدت ۱۰ دقیقه با پلیت سانتریفیوژ، سانتریفیوژ شد. محلول رویی را خالی کرده و به آن 100μL محلول DMSO اضافه شد. سپس توسط دستگاه ELISA Reader جذب نوری نمونهها در طول موج ۵۷۰ nm خوانده شد.

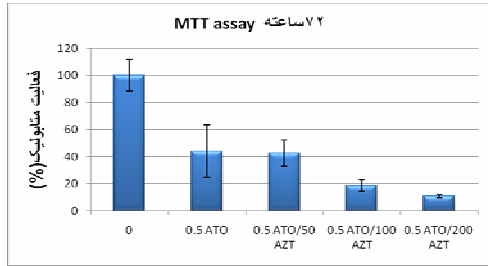
روش

روش مطالعه از نوع تجربی و جامعه مورد بررسی رده سلولی NB4 (رده سلولی مربوط به APL) بود و آزمایشات سه بار تکرار شدند. آنالیز آماری با استفاده از student-t test و نرم افزار EXCEL انجام شد.

یافته ها

همانگونه که گفته شد مطالعه ما روی رده سلولی NB4 انجام گرفت. در این مطالعه سلولها تحت تاثیر دوز ۰/۵ میکرومولار ATO، دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰، ۵۰ میکرومولار AZT و ترکیب اینها قرار گرفتند. بررسی زنده مانی سلولها با تریپان بلو به مدت ۲۰ روز انجام شد. نتایج حاصل از این بررسی در روز چهارم و بیستم در نمودارهای ۱ و ۲ مشاهده می شود.

همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می شود، دوز ۰/۵ ارسنیک به تنهایی و در ترکیب با دوز ۵۰ میکرومولار AZT در یک حالت وابسته به زمان اثر کمی روی زنده مانی دارد اما در ترکیب با دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰



نمودار ۴: فعالیت متابولیک سلولها، سنجیده شده با MTT assay بعد از ۷۲ ساعت مجاورت با دارو

همانطور که در نمودارها و جداول مشاهده می شود ، دوز ۰/۵ آرسنیک به تنهایی و در ترکیب با دوزهای مختلف AZT باعث کاهش فعالیت متابولیک سلولی شده است اما کاهش معناداری بین دوز ۰/۵ آرسنیک و ترکیب دوز ۰/۵ آرسنیک با دوز ۵۰ AZT مشاهده نمی شود در صورتی که ترکیب دوز ۰/۵ آرسنیک با دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰ AZT باعث کاهش بیشتری در فعالیت سلولی نسبت به بکار بردن دوز ۰/۵ آرسنیک به تنهایی شده است و اختلاف بین دوز ۰/۵ آرسنیک و ترکیب دوز ۰/۵ آرسنیک با دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰ AZT معنا دار می باشد.

بحث و نتیجه گیری

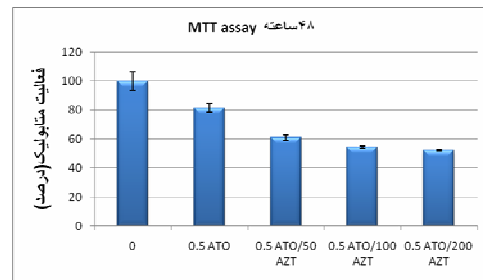
در مطالعه ای که انجام شد اثر دوز پایین ATO (0/5) میکرومولار را در ترکیب با دوزهای ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ میکرومولار AZT که یک مهار کننده تلومرآز و القا کننده آپتوز است و باعث کاهش زنده مانی سلولهای سرطانی می شود را روی رده سلولی NB4 (رده سلولی مشتق از لوسمی پرومیلوسیتیک حاد) مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه نشان داده شد دوز ۰/۵ آرسنیک به تنهایی و در ترکیب با دوزهای مختلف AZT باعث کاهش فعالیت متابولیک سلولی و زنده مانی سلولها شده است اما دوز ۰/۵ آرسنیک در ترکیب با دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰ AZT باعث کاهش قابل ملاحظه ای در فعالیت متابولیک و زنده مانی نسبت

بررسی فعالیت متابولیک سلولها با MTT assay ۷۲ ساعت و ۴۸ ساعت بعد از تیمار انجام شد. نتایج تیمار با ترکیب دوز پایین ATO و دوزهای مختلف AZT در نمودارهای ۳ و ۴ و جداول ۱ و ۲ مشاهده می شود.

جدول ۱: جدول همبستگی AZT با دوز ۰/۵ میکرومولار آرسنیک برای فعالیت متابولیک ۴۸ ساعته

دوز دارو	P value
0/5 ATO / 50 AZT	*P value < 0/001
0/5 ATO / 100 AZT	*P value < 0/001
0/5 ATO / 200 AZT	*P value < 0/001

*با دوز ۰/۵ میکرومولار آرسنیک مقایسه شده است.



نمودار ۳: فعالیت متابولیک سلولها، سنجیده شده با MTT assay بعد از ۴۸ ساعت مجاورت با دارو

جدول ۲: جدول همبستگی AZT با دوز ۰/۵ میکرومولار آرسنیک برای فعالیت متابولیک ۷۲ ساعته

دوز دارو	P value
0/5 ATO / 50 AZT	*P value < 0/05
0/5 ATO / 100 AZT	*P value < 0/001
0/5 ATO / 200 AZT	*P value < 0/001

*با دوز ۰/۵ میکرومولار آرسنیک مقایسه شده است.

با مکانیسم های مختلفی باعث آپتوز رده های سلولی مختلف میشود مثل کاهش بیان ژن c-myc، کاهش فعالیت تلومراز، افزایش بیان P53، کاهش بیان ژن bcl-2 و فعال کردن کاسپازها (۱۶-۱۵ و ۲-۱). AZT نیز با مکانیسمهای مختلفی باعث آپتوز و کاهش زنده ماندن سلولها می شود مثل مهار آنزیم تلومراز، کاهش بیان ژن c-myc و آپتوز با واسطه فعال کردن کاسپاز (۱۷ و ۱۳). احتمالا می توان گفت از آنجاییکه مسیرهای آپتوتیک مشترکی بین این دو دارو وجود دارد، بنابراین، بکار بردن AZT که در بعضی مسیرهای القاء آپتوز با آرسنیک مشابه است در ترکیب با دوز پایین و غیر آپتوتیک آرسنیک باعث تقویت اثر دوز پایین و غیر آپتوتیک آرسنیک در القاء آپتوز و کاهش فعالیت متابولیک می شود.

فاکتورهای زیادی در چرخه تکثیر و آپتوز سلول نقش دارند و از آنجاکه به جزء مطالعه ما هنوز هیچ مطالعه ای در رابطه با بکار بردن ترکیب AZT و آرسنیک گزارش نشده است و همچنین هیچ مطالعه ای در رابطه با اثر AZT روی رده سلولی NB4 به چشم نخورد، و خصوصا اینکه در رابطه با اثرات AZT روی بیان ژنها (gene profiling)، چرخه سلولی و مسیرهای انتقال پیام مرتبط با AZT مطالعات زیادی صورت نگرفته است بنابراین بایستی تحقیقات بیشتری در این موارد صورت گیرد تا مکانیسم اثرات AZT و نیز آرسنیک و همچنین اثرات ترکیبی این دو دارو کاملا مشخص شود.

تشکر و قدردانی

از مدیریت و کارکنان محترم مرکز تحقیقات خون، آنکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعتی که در انجام این پژوهش ما را یاری دادند و اجازه کار در این مرکز را دادند سپاسگزاری به عمل می آید.

به بکار بردن دوز ۰/۵ آرسنیک به تنهایی شده است. تاکنون مطالعات مختلفی در بکار بردن AZT و ATO روی رده های سلولی مختلف انجام شده است و اثرات مختلفی از اینها بررسی و مشاهده شده است. در مطالعه فانگ و همکاران (۲۰۰۹) مشخص شد که AZT باعث تاخیر در روند چرخه سلولی، القاء آپتوز و کاهش فعالیت تلومراز در رده سلولی مربوط به هپاتوما (Hepg2) می شود (۱۲). در مطالعه جی و همکاران (۲۰۰۵) نشان داده شد که AZT باعث پیری سلول، آپتوز، تاخیر در رشد سلول، مهار فعالیت تلومراز، کوتاه شدن طول تلومر، کاهش بیان ژن hTERT و کاهش بیان ژن c-myc در رده سلولی مربوط به سرطان پستان (MCF-7) می شود (۱۳).

در مطالعه سان و همکاران (۲۰۰۷) مشخص شد که AZT باعث کاهش فعالیت تلومراز، افزایش آپتوز، مهار تکثیر سلولی، افزایش بیان caspase-3 و کاهش بیان ژن bcl-2 در رده سلولی مربوط به سرطان معده (MKN45) می شود. در این مطالعه آنها اثر ترکیبی AZT و FA-2-b-β را نیز بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که اثر ترکیبی این دو دارو بیشتر از اثر هر کدام به تنهایی می باشد (۱۴).

جی لی و همکارانش (۲۰۰۲) نشان دادند که آرسنیک باعث القاء آپتوز در سلولهای NB4 می شود (۱۵). ژانگ و همکاران (۲۰۰۳) با مطالعه روی رده سلولی HL-60 (رده سلولی لوسمی پرومیلوسیتی) نشان دادند که آرسنیک در دوز کم اثر قابل توجهی در القاء آپتوز روی این سلولها ندارد (۱۰). تارکانی و همکاران (۲۰۰۵) با مطالعه روی رده سلولی NB4 نشان دادند آرسنیک در دوز کم به تنهایی اثری روی تکثیر و زنده ماندن این سلولها ندارد (۸).

مکانیسمهای مولکولی اثر این دو دارو کاملا مشخص نیست. بسیاری از اثرات AZT و آرسنیک روی رده های سلولی و القاء آپتوز مشابه است. آرسنیک

1. Wang ZY, Chen Z. Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable. *Am Soc Hematology* 2008; 111(5): 2505.
2. Miller Jr WH, Schipper HM, Lee JS, Singer J, Waxman S. Mechanisms of action of arsenic trioxide. *AACR* 2002; 62(14): 3893.
3. Ghaffari SH, Shayan-Asl N, Jamialahmadi AH, Alimoghaddam K, Ghavamzadeh A. Telomerase activity and telomere length in patients with acute promyelocytic leukemia: indicative of proliferative activity, disease progression, and overall survival. *Annals of Oncology* 2008; 19(11): 1927-34.
4. Miller KB, Daoust PR. Clinical manifestations of acute myeloid leukemia. 4th ed. Philadelphia: Elsevier; 2005: 1071-98.
5. Sanz MA, Fenaux P, Lo Coco F. Arsenic trioxide in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Haematologica* 2005; 90(9): 1231.
6. Rankin AM, Faller DV, Spanjaard RA. Telomerase inhibitors and 'T-oligo' as cancer therapeutics: contrasting molecular mechanisms of cytotoxicity. *Anticancer Drugs* 2008; 19(4): 329-38.
7. Phatak P, Burger AM. Telomerase and its potential for therapeutic intervention. *British Journal of pharmacology* 2007; 152(7): 1003-11.
8. Tarkanyi I, Dudognon C, Hillion J, Pendino F, Lanotte M, Aradi J, et al. Retinoid/arsenic combination therapy of promyelocytic leukemia: induction of telomerase-dependent cell death. *Leukemia* 2005; 19(10): 1806-11.
9. Cunha De Santis G, De Barros Tamarozzi M, Sousa RB, Moreno SE, Secco D, Garcia AB, et al. Adhesion molecules and differentiation syndrome: phenotypic and functional analysis of the effect of ATRA, As2O3, phenylbutyrate, and G-CSF in acute promyelocytic leukemia. *Haematologica* 2007; 92(12): 1615-22.
10. Zhang TC, Schmitt MT, Mumford JL. Effects of arsenic on telomerase and telomeres in relation to cell proliferation and apoptosis in human keratinocytes and leukemia cells in vitro. *Carcinogenesis* 2003; 24(11): 1811-17.
11. Zhang Y, Cao EH, Liang XQ, Qin JF. Increasing sensitivity to arsenic trioxide-induced apoptosis by altered telomere state. *European Journal of Pharmacology* 2003; 474(2-3): 141-47.
12. Fang JL, Beland FA. Long-term exposure to zidovudine delays cell cycle progression, induces apoptosis, and decreases telomerase activity in human hepatocytes. *Toxicol Sci* 2009; 111(1): 120-30.
13. Ji HJ, Rha SY, Jeung HC, Yang SH, An SW, Chung HC. Cyclic induction of senescence with intermittent AZT treatment accelerates both apoptosis and telomere loss. *Breast cancer research and treatment* 2005; 93(3): 227-36.
14. Sun YQ, Guo TK, Xi YM, Chen C, Wang J, Wang ZR. Effects of AZT and RNA-protein complex (FA-2-b-beta) extracted from Liang Jin mushroom on apoptosis of gastric cancer cells. *World Gastroenterol* 2007; 13(31): 4185-91.
15. Li J, Chen P, Sinogeeva N, Gorospe M, Wersto RP, Chrest FJ, et al. Arsenic trioxide promotes histone H3 phosphoacetylation at the chromatin of CASPASE-10 in acute promyelocytic leukemia cells. *J Biol Chem* 2002; 277(51): 49504-10.

16. Chen GQ, Zhu J, Shi XG, Ni JH, Zhong HJ, Si GY, et al. In vitro studies on cellular and molecular mechanisms of arsenic trioxide (As₂O₃) in the treatment of acute promyelocytic leukemia: As₂O₃ induces NB4 cell apoptosis with downregulation of Bcl-2 expression and modulation of PML-RAR alpha/PML proteins. *Blood* 1996; 88(3): 1052-61.

17. Macchi B, Mastino A. Pharmacological and biological aspects of basic research on nucleoside-based reverse transcriptase inhibitors. *Pharmacol Res* 2002; 46(6): 473-82.

Combination Effect Of Low Dose of Arsenic Trioxide And AZT On Viability And Metabolic Activity Of NB4 Cell Line

Mirzaee Khalilabadi R¹ (MSc.) - Mardani Valandani H¹(MSc.)
Bashshash D¹(MSc.) - Einollahi N² (PHD) - Ali Moghaddam K³(M.D.)
Ghavamzade A⁴ (M.D.) - Ghaffari H³(PHD)

1 Master of Sciences in Hematology, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2 Associate Professor, Medical Laboratory Sciences Department, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3 Associate Professor, Hematology & Oncology and BMT Research Center, Shariati Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4 Instructor, Hematology & Oncology and BMT Research Center, Shariati Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Received : Jun 2010
Accepted : Dec 2010

Background and Aim: Acute promyelocytic leukemia (APL) is a distinct subtype of acute myeloid leukemia. APL is characterized by a balanced reciprocal translocation between chromosomes 15 and 17, t(5;17)). Important therapeutic strategies for this disease are ATRA and Arsenic trioxide. To eliminate tumor cells with arsenic, high dose of arsenic is needed. But high dose is toxic for normal tissue. The purpose of this study is Assessment of effect of low dose of arsenic trioxide in combination with AZT on NB4 cell line (APL cell line) to reduce toxic effect of high dose arsenic.

Materials and Methods: In this study after NB4 cell line culture and proliferation, the cells treated with low dose of arsenic trioxide(0.5µM) in combination with different doses of AZT(50, 100, 200 µM) and then viability and metabolic activity was assessed by try pan blue and MTT assay respectively.

Results: Low dose of arsenic (0.5µm) alone and in combination with dose of 50µm of AZT has little effect on viability and metabolic activity but in combination with higher dose of AZT has significant effect on viability and metabolic activity and both viability and metabolic activity significantly reduced.

Conclusion: Different apoptosis- induced mechanisms cause apoptosis by arsenic and AZT. Since some of these mechanisms between AZT and arsenic are similar, so maybe these similar mechanisms cause synergic effect and significant reduction of viability and metabolic activity in combination of these two drugs.

Key Words: Acute Promyelocytic Leukemia, NB4 cell, Arsenic, AZT

* Corresponding author:
Ghaffari H;
E-mail :
Shghaffari200@yahoo.com