مقاله پژوهشی

تاثیر رتینوئیک اسید تمام ترانس و ترکیب آن با سیس پلاتین بر روی بقاء رده سلولی سرطان معده(AGS)

دکتر نوروز نجف زاده *، اسدالله عباسی **، دکتر محمد ماذنی ***، دکتر مجتبی امانی****

دریافت : ۹۲/۱/۲۸ ، پذیرش : ۹۲/۴/۱۷

چکیده:

مقدمه و هدف: رتینوئیک اسید تمام ترانس یکی از ترکیبات گروه رتینوئیدها است که بر روی رشد، تمایز و القاءِ آپوپتوز در سلول های سالم، پیش سرطانی و سرطانی موثر می باشد. سیس پلاتین، یکی از داروهای موثر در درمان اغلب سرطان ها است که با اتصال متقاطع به DNA موجب آپوپتوز می‌گردد. مطالعات اخیر اثرات هم افزایی رتینوئیک اسید با سیس پلاتین بر روی برخی از رده های سلولی سرطان ملانوما و تخمدان را نشان داده است و لذا در این مطالعه اثرات هم افزایی ترکیب رتینوئیک اسید با سیس پلاتین در رده سلولی سرطان معده (AGS) مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: در این مطالعه تجربی رده سلولی سرطان معده در محیط RPMI-1640 کشت داده شد و سپس تاثیر رقت های مختلف رتینوئیک اسید و سیس پلاتین بر روی این سلول ها به روش های ارزیابی کلونی و رنگ آمیزی آکریدین و اتدیوم بروماید بررسی شد.

نتایج: یافته ها نشان داد که رتینوئیک اسید تمام ترانس به تنهایی اثر قابل ملاحظه ای بر روی مرگ رده سلولی سرطان معده نداشت ولی ترکیب درمانی رتینوئیک اسید تمام ترانس با سیس پلاتین باعث افزایش مرگ سلولی نکروز و آپوپتوز شد. در سلولهایی که با ۱۰میکرومولار رتینوئیک اسید تمام ترانس و ۵ و۱۰ میکروگرم سیس پلاتین تیمار شده بودند آپوپتوز بیشتری نسبت به گروههای تیمار با یک دارو مشاهده شد($P<0.001$). به نظر می رسد حساسیت این رده سلولی نسبت به رتینوئیک اسید تمام ترانس وابسته به غلظت سیس پلاتین است.

نتیجه نهایی: استفاده همزمان غلظت های پایین رتینوئیک اسید تمام ترانس با سیس پلاتین برای درمان سلولهای سرطانی موثرتر از استفاده به تنهایی از این داروها است.

کلید واژه ها: آپوپتوز / ترتینوئین / رده سلولی / سرطان معده / سیس پلاتین

مقدمه :

سرطان معده چهارمین سرطان شایع در جهان بوده و دومین عامل منجربه مرگ ناشی از سرطان ها بعد از سرطان ریه می باشد. درمان رایج آن در حال حاضرجراحی و شیمی درمانی است که اغلب به دلیل عود و رشد دوباره آن طول عمر افراد مبتلا به سرطان معده کمتر از ۵ سال می باشد. بنابراین ترکیباتی که از تشکیل تومورهای اولیه و ثانویه جلوگیری کنند می توانند در درمان سرطان معده مفید باشند(۳-۱).

رتینوئید ها، ترکیباتی هستند که از نظر ساختاری و عملکردی آنالوگ ویتامینA می باشند. رتینوئیک اسید تمام ترانس که یکی از ترکیبات گروه رتینوئیدها است در بدن انسان به ۹- سیس رتینوئید و ۱۳- سیس رتینوئید متابولیزه می شوند و این متابولیت ها با تمایل بالا به رسپتورهای رتینوئیدی در داخل هسته متصل شده و باعث فعال شدن آنها و عملکرد فاکتورهای رونویسی می گردند(۴) بهمین دلیل در تنظیم رشد سلول های اپیتلیالی، تمایز و تکثیر آنها موثر می باشند. مطالعات

* استادیار گروه علوم تشریحی و پاتولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
** دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل (nowruz30@gmail.com)
*** استادیار گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
**** دانشیار گروه بیوفیزیک دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

Archive of SID
www.SID.ir

اخیر نشان داده است که رتینوئیک اسید بر روی برخی از رده سلولهای سرطانی انسان از جمله ملانوما(۵) تخمدان(۶) و کبد خواص ضد سرطانی دارد(۴،۵)

سیس پلاتین یکی از داروهای بسیار موثر دردرمان تومورهای بدخیم سرطان تخمدان ومعده می باشد که با اتصال متقاطع به DNA باعث القای آپوپتوز می شود ولی به علت اثرات سمی بر روی کلیه و سیستم عصبی استفاده از آن محدود می باشد(۷،۸). بنابراین می توان با کاهش اثرات جانبی و افزایش سطح تاثیر دارو عملکرد آن را بهبود بخشید. اخیرا مقاومت نسبت به سیس پلاتین در برخی تومورها از جمله تخمدان و معده افزایش پیدا کرده است که مکانیسم های مختلفی در ایجاد مقاومت نقش دارند و مهمترین آنها افزایش بیان پروتئین ضد اپوپتوتیک Bcl-2 درسلول های توموری می باشد(۶).

مطالعات اخیر نشان دهنده اثرات هم افزایی رتینوئیدها در ترکیب با سایر دارو های ضد سرطانی می باشند(۶) با توجه به یافته های جدید مبنی بر اثرات مهاری رتینوئیک اسید تمام ترانس بر روی رشد و چرخه سلولی در برخی از رده های سلولی سرطانی انسان، در این مطالعه اثرات ترکیبی رتینوئیک اسید با سیس بلاتین بر روی مرگ سلولی سرطان معده انسان(AGS) بررسی شد.

روش کار:

داروها: جهت انجام این مطالعه تجربی سیس پلاتین و رتینوئیک اسید تمام ترانس از شرکت سیگما خریداری شد سپس درمحلول فسفات بافر حل شد و استوک اولیه رتینوئیک اسید تمام ترانس، با حل کردن آن در دی متیل سولفواکسید تهیه گردید.

کشت سلولی : رده سلولی AGS از شرکت انیستیتو پاستور ایران خریداری شد و در محیط RPMI-1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی و۱٪ محلول آنتی بیوتیک پنی سیلین/ استرپتومایسین (جیبکو) کشت داده شد و در انکوباتور، در دمای ۳۷°C و ۵٪ CO2 نگهداری گردید.

گروههایی که در ارزیابی کلونی استفاده شد : الف) گروه کنترل که به مدت هفت روز، تحت تاثیرهیچ گونه دارویی قرار نگرفت. ب) گروه شم که به مدت هفت روز، تحت تاثیر محیط کشت حاوی DMSO که حلال رتینوئیک اسید تمام ترانس بود قرار گرفت. پ) گروه درمان در این گروه سلولها به مدت هفت روز تحت تاثیر رتینوئیک اسید تمام ترانس غلظتهای ۵، ۱۰، ۱۵و۲۰ میکرومولار قرار گرفت.

گروههایی که جهت بررسی مرگ سلولی استفاده شد: الف) سلولها به مدت هفت روز با غلظت ۵ میکرومولار رتینوئیک اسید تمام ترانس و بعد از آن سه روز تحت تاثیر غلظتهای ۵ و ۱۰ میکروگرم سیس پلاتین قرار گرفتند. ب) سلولها به مدت هفت روز با غلظت ۱۰ میکرومولار رتینوئیک اسید تمام ترانس و بعد از آن سه روز تحت تاثیر غلظتهای ۵ و ۱۰ میکروگرم سیس پلاتین قرار گرفتند. ج) سلولها به مدت سه روز تحت تاثیر غلظتهای ۵ و ۱۰ میکروگرم سیس پلاتین قرار گرفتند.

ارزیابی مورفولوژی سلولی برای آپوپتوز : سلولها در فلاسکهای T25 کشت داده شدند سپس آنها را با تریپسین/ ادتا جدا کرده و بعد از سانتریفوژ، تعداد ۱۲۰۰۰ سلول را در هر پلیت شش خانه(۲۰۰۰ سلول در هر خانه) کشت داده و به مدت هفت روز، با غلظت های مختلف رتینوئیک اسید تمام ترانس و سیس پلاتین درمان شدند. بعد از هفت روز (بر اساس مطالعات انجام شده سلول ها در چهار روز اول بعد از کشت رشد کمتری دارند، شش تا ده روز پس از کشت، رشد سریع و دوازده روز بعد به علت افزایش تعداد سلول های زنده بطور قابل ملاحظه ای کاهش می یابند) ۰/۵ میلی لیتر محلول حاوی ۱۰۰میلی گرم اکریدین اورنج و اتیدیوم بروماید به هر خانه پلیت اضافه شد و ۵ دقیقه بعد با میکروسکوپ فلوئورسنت مدل المپیوس تصاویر تهیه گردید. سلول های آپوپتوتیک، هسته قطعه قطعه شده دارند و به راحتی از سلول های نرمال قابل تشخیص می باشند علاوه بر آن با این روش می توان سلول های آپوپتوتیک اولیه با هسته ی متراکم سبز کم رنگ وغشای سیتوپلاسمی سالم را از سلول های آپوپتوتیک تاخیری با هسته متراکم قرمز فلوئوروسنت و قطعه قطعه شده تشخیص داد، سلول های نکروتیک نیز به رنگ زرد متمایل به قرمز و بدون قطعه قطعه شدن هسته مشخص می باشند وهمچنین سلول های سالم به رنگ سبز پررنگ، قابل تشخیص هستند(۹).

ارزیابی کلونی با شمارش کلونی : برای ارزیابی کلونی سلولی، بعد از تریپسینه کردن، سلولها با محیط کشت شستشو داده

Archive of SID

www.SID.ir

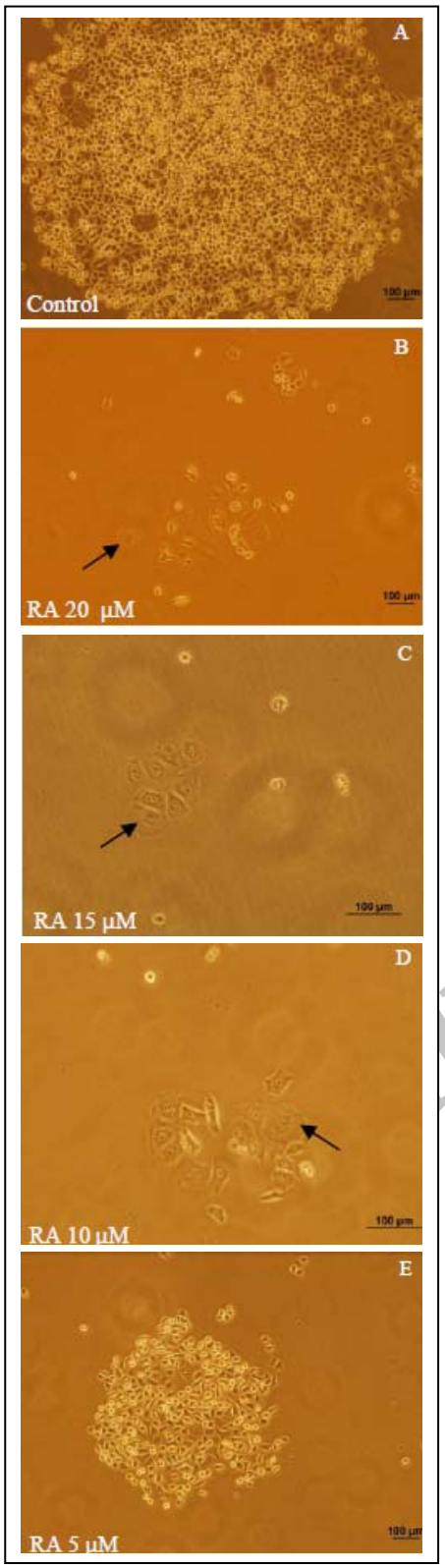
شدند و تعداد ۱۲۰۰۰ سلول را در ۶ میلی لیتر محیط کشت مخلوط کرده و در پلیت شش خانه ای به تعداد ۲۰۰۰ سلول در میلی لیتر به هرخانه کشت اضافه شد، سپس به مدت یک شب انکوبه شدند تا به کف پلیت بچسبند و روز بعد محیط کشت حاوی غلظتهای ۵،۱۰،۱۵و۲۰ میکرومولار رتینوئیک اسید تمام ترانس اضافه شد، بعد از ۷روز سلولها با کریستال ویوله (۰/۵٪ کریستال ویوله که در متانول ۲۰٪ حل شده است) رنگ آمیزی شدند از کلونی های سلولی، تصاویری با میکروسکوپ معکوس (Invert) تهیه شد و کلونی ها بیش از ۵۰ سلول با برنامه ایمیج جی(Image j) شمارش شدند و تعداد کلونی ها و تمایز سلولی در کلونی ها براساس شکل سلولی (سلولها از لحاظ ظاهری بزرگتر و مسطح تر) مورد بررسی قرار گرفتند(۱۰).

تجزیه و تحلیل آماری: اطلاعات بدست آمده از شمارش کلونی ها با نرم افزار آماری SPSS (ورژن ۱۶) و تستهای آماری ANOVA و تست تکمیلی Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفتند.

نتایج:

تمایز سلولی: بعد از تاثیر رقت های مختلف رتینوئیک اسید تمام ترانس به مدت ۷ روز بر روی سلول های سرطان معده تصاویر میکروسکوپ اینورت نشان داد که رقتهای۱۰ ،۱۵و ۲۰ میکرومولار رتینوئیک اسید تمام ترانس باعث تمایز سلولی شده ولی رقت ۵ میکرومولار اثری بر روی تمایز سلول های سرطان معده نشان نداد (شکل۱).

ارزیابی تعداد کلونی ها : ارزیابی تعداد کلونی ها با رنگ آمیزی کریستال ویوله نشان داد که غلظت های ۱۰و۱۵میکرومولار رتینوئیک اسید تمام ترانس تاثیر چندانی در کاهش تعداد کلونی ها نسبت به گروه کنترل ندارد اما غلظت ۵ میکرومولار باعث افزایش تعداد کلونی ها نسبت به گروه کنترل وغلظت ۲۰ میکرومولار باعث کاهش تعداد کلونی ها نسبت به گروه کنترل شد. ترکیب رتینوئیک اسید تمام ترانس با سیس پلاتین باعث کاهش معنی داری در تعداد کلونی سلولی شد به طوریکه ترکیب ۱۰ میکرومولار ال- ترانس رتینوئیک اسید تمام ترانس با ۱۰ میکروگرم سیس پلاتین باعث کاهش بیشتر تعداد کلونی ها شد ($P<0.001$) (شکل۲ و ۳).



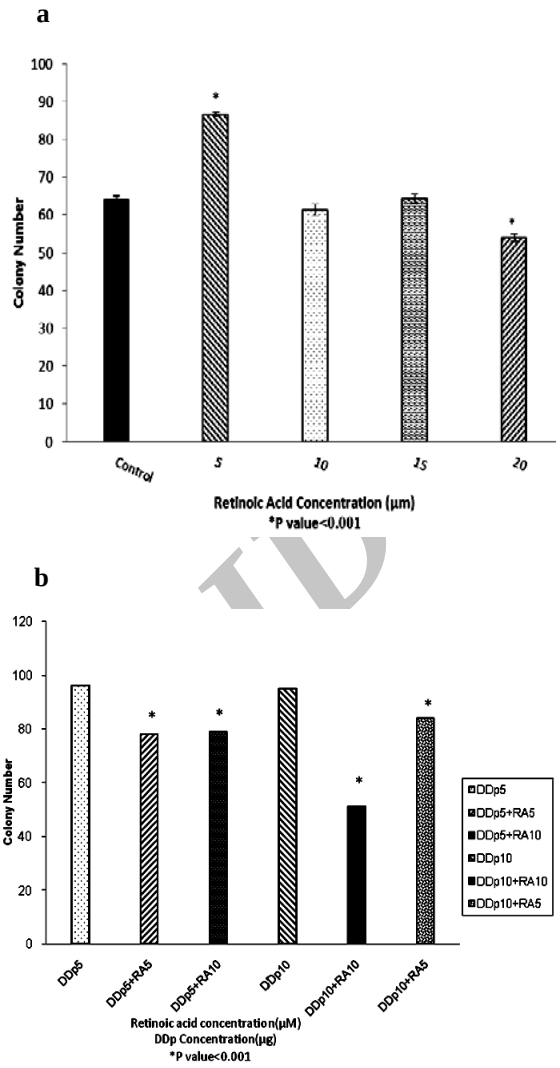
شکل ۱: مورفولوژی سلولی

درگروه کنترل تمایزسلولی مشاهده نشد (A) در گروه هایی که غلظتهای ۱۰ و۱۵و۲۰ میکرومولار رتینوئیک اسید را دریافت کرده بودند سلول ها پهن شده و خصوصیات تمایزی از خود نشان دادند (B, C, D) گروهی که با رقت ۵ میکرومولار درمان شده بودند تمایزی را نشان نداند (E)

RA مخفف رتینوئیک اسید می باشد.

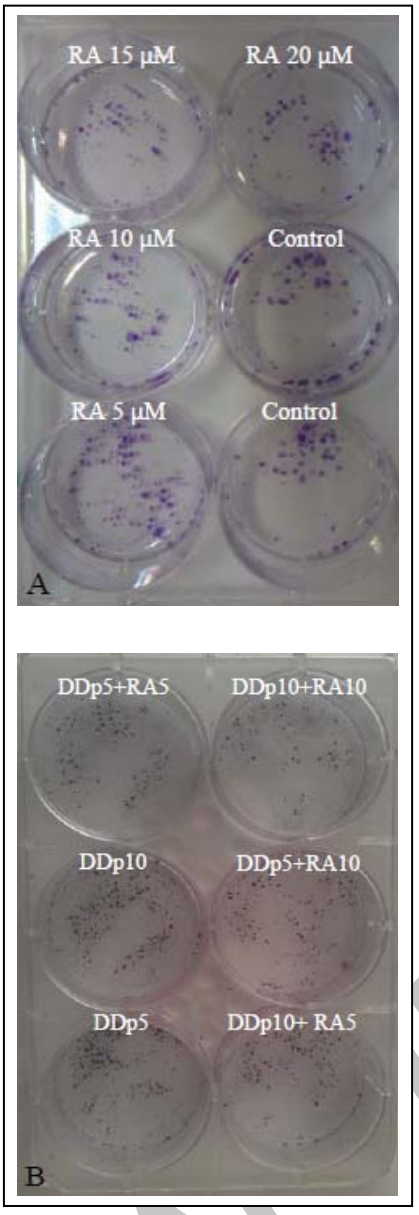
Archive of SID

www.SID.ir



شکل۲: تاثیر غلظتهای مختلف ال-ترانس رتینوئیک اسید و ترکیب آن با سیس پلاتین روی کلونی زای سلولهای رده سلولی سرطان معده. شکلa میانگین تعداد کلونیهای بعد از تیمار با غلظت های مختلف رتینوئیک اسید را نشان می دهد. درشکل b تاثیر ترکیب سیس پلاتین با رتینوئیک اسید مشاهده می شود
DDp مخفف سیس پلاتین

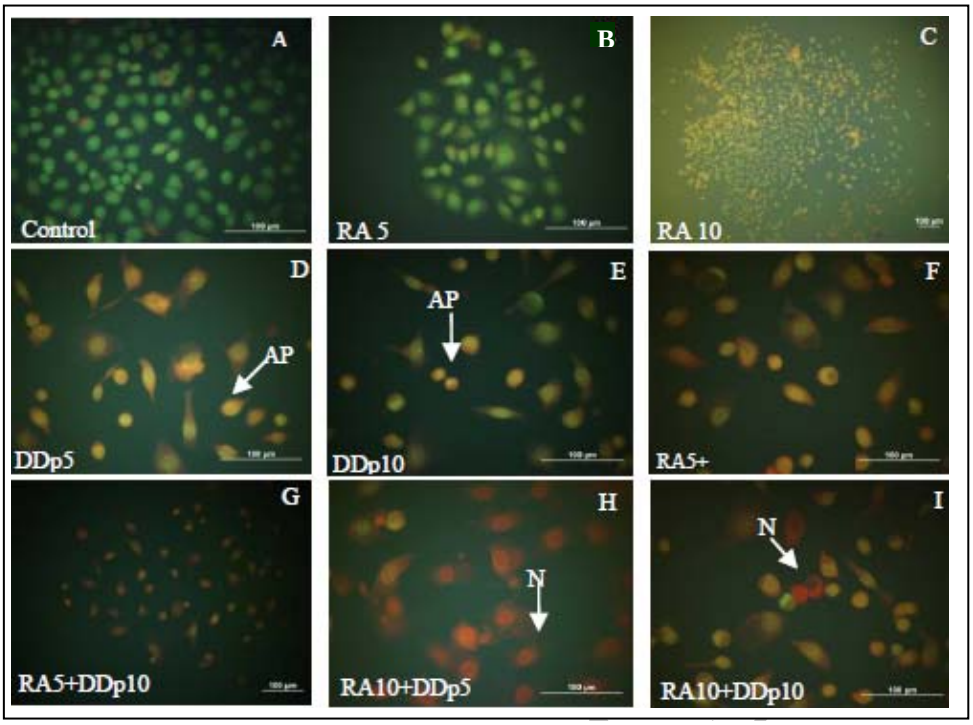
بررسی مرگ سلولی : سلول ها در پلیت ۶ خانه به مدت ۷ روز تحت تاثیر رقت های مختلف رتینوئیک اسید و سیس پلاتین قرار گرفتند و بعد از رنگ آمیزی با آکریدین اورنج و اتیدیوم بروماید، سلولهای زنده، آپوپتوتیک و نکروتیک شمارش شدند. نتایج این رنگ آمیزی نشان داد که در گروه های ترکیب درمانی رتینوئیک اسید تمام ترانس ۵ و ۱۰ میکرومولار با ۵ و ۱۰ میکروگرم سیس پلاتین نسبت به استفاده به تنهایی از سیس پلاتین و یا رتینوئیک اسید تمام ترانس مرگ سلولی بیشتری مشاهده می شـــــود.



شکل۳: تعداد کلـونی هـای شـکل گرفتـه بعـد از درمـان بـا غلظتهای مختلف رتینوئیک اسـید(A) و ترکیـب رتینوئیـک اسید باسیس پلاتین(B).

ترکیـب رتینوئیـک اسـید تمـام تـرانس ۵ میکرومـول بـا ۵ و ۱۰ میکروگـــرم ســـیس پلاتـــین باعـــث افـــزایش سلول های آپوپتوتیک اولیه شده ولی در ترکیـب درمـانی رتینوئیک اسـید تمـام تـرانس ۱۰ میکرومـولار بـا سـیس پلاتین ۵ و ۱۰ میکروگرم مرگ سلولی از نـوع آپوپتوتیـک تاخیری قابـل ملاحظـه بـود. بهتـرین نتیجـه در ترکیـب درمانی رتینوئیـک ۱۰ میکرومـولار بـا سـیس پلاتـین ۱۰ میکروگرم بدست آمد که کمترین تعـداد کلـونی را نـشان می داد (شکل۴، جدول ۱).

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۴: مرگ سلولی بعد از رنگ آمیزی با آکریدین اورنج و اتدیوم بروماید

در گروه کنترل تمام سلولها زنده مانده اند(A) در گروه رتینوئیک اسید ۵ میکرومولار مرگ سلولی دیده نشد(B) مقایسه این گروهها با هم نشان می دهد که در گروههای ترکیبی بیشترین مرگ از نوع آپوپتوز دیده می شود(F, G, H, I) در گروههای که داروهای رتینوئیک اسید و سیس پلاتین به تنهایی استفاده شده بود مرگ سلولی آپوپتوتیک کمتری دیده می شود(B, C, D, E)

AP: آپوپتوز، N: نکروز

جدول ۱: درصد سلولهای زنده، آپوپتوتیک اولیه،آپوپتوتیک تاخیری و نکروتیک در گروه های مختلف درمان شده با غلظت های مختلف رتینوئیک اسید، سیس پلاتین و ترکیب آنها بر اساس رنگ آمیزی آکریدین اورنج و اتیدیوم برماید

	سلول های زنده	آپوپتوتیک اولیه	آپوپتوتیک تاخیری	نکروتیک
کنترل	۱۰۰	۰	۰	۰
رتینوئیک اسید ۵	۱۰۰	۰	۰	۰
رتینوئیک اسید ۱۰	۲۹/۰۳۲	۱۶/۱۲۹	۱۷/۴۰۴	۳۷/۶۳۵
سیس پلاتین ۵	۵۱/۳۴	۳۵/۱۱۷	۲/۷۵۷	۱۰/۷۸۶
سیس پلاتین ۱۰	۳۹/۶۹	۴۹/۲۰۶	۱/۵۸۱	۹/۵۲۳
رتینوئیک اسید تمام ترانس ۵ و سیس پلاتین۵	۱۹/۶۸	۶۸/۱۸	۷/۵۵	۴/۵۹
رتینوئیک اسید تمام ترانس ۵ و سیس پلاتین۱۰	۹/۵۲۳*	۸۵/۷۱۶*	۰*	۴/۷۶۱*
رتینوئیک اسید تمام ترانس ۱۰ و سیس پلاتین۵	۵/۴۵۵*	۱۱/۵۵۵*	۳۵/۹۹*	۴۷/۵*
رتینوئیک اسید تمام ترانس ۱۰ و سیس پلاتین۱۰	۱/۳۸۸	۱۲/۵*	۳۴/۷۲*	۵۱/۳۹۲*

واحد رتینوئیک اسید میکرو مولار و سیس پلاتین میکروگرم می باشد. $P < 0.001$* می باشد.

بحث:

رتینوئیک اسید تمام ترانس به عنوان متابولیت فعال ویتامین A در بسیاری از مراحل تمایز و تکثیر سلولهای پوششی شرکت می کند. ویتامین A و مشتقات آن از جمله رتینوئیک اسید تمام ترانس از طریق دو دسته گیرنده RAR وRXR اثرات خود را در سلول های بدن اعمال می کند(۴).

داروهای با اساس پلاتینیومی همچون سیس پلاتین (Cisplatin ; cis pt (II) (NH3)2 CL2) و کربوپلاتین از طریق اتم پلاتین پیوند های کوالانسی ایجاد می کنند، سیس پلاتین ملکولی قابل حل در آب می باشد که دارای یک اتم پلاتین متصل به چهار گروه کارکردی است پیوند Pt-N(پلاتین- نیتروژن)کوالانسی بوده و غیر قابل برگشت می باشد در حالی که پیوند با کلر(CL) ناپایدار است این داروها ترکیب اضافی(adduct) GXG,AG,GG (X هر بازی می تواند باشد) را تا ۹۰٪ در DNA ایجاد می کنند

www.SID.ir

بدنبال آن DNA آسیب می بیند و سلول از طریق فرایند آپوپتوز ازبین می رود(۸،۱۱). هر چند سیس پلاتین اثر خوبی روی برخی سرطان ها(مانند سرطان تخمدان، معده) دارد اما اثر تخریبی غیر قابل برگشت روی کلیه ها می گذارد(۶،۱۲). رِتینوئیک اسید تمام ترانس هم جزء داروهای ضد سرطانی است و یکی از عوامل شناخته شده القاء گر تمایز سلولی می باشد که در درمان نوعی از سرطان خون به نام لوسمی پرومیلوسیتیک حاد (Acute Promyelocytic Leukemia; APL) به عنوان تمایز دهنده سلول های پرومیلوسیت به سلول های گرانولوسیت استفاده می شود(۱۳،۱۴).

مطالعه ما بر روی تاثیر رتینوئیک اسید تمام ترانس با سیس پلاتین بر روی رده سلولیAGS نشان داد که استفاده همزمان از این داروها، اثرات ضد سرطانی بیشتری دارد و رتینوئیک اسید ۵ میکرومولار با سیس پلاتین باعث افزایش تعداد سلول های آپوپتوتیک اولیه میشوند علاوه بر این سلول های سرطانی بعد از درمان با رتینوئیک اسید تمام ترانس ۱۰میکرومولار و سیس پلاتین دچار آپوپتوز تاخیری و نکروتیک میگردند، به نظر میرسد که غلظت های پایین رتینوئیک اسید با افزایش حساسیت سلول ها به سیس پلاتین باعث این عمل می شوند. درمطالعه مشابهی، ابی و همکارانش در سال ۱۹۹۷ نشان دادند که ترکیب درمانی با دوزهای پایین رتینوئیک اسید تمام ترانس(۵ میکرومول) و سیس پلاتین(۵ میکرومول) تاثیر زیادی روی آپوپتوز سلولهای سرطانی سر و گردن دارد(۶) یکی دیگر از نتایج این مطالعه، تمایز سلولی با رقت ۲۰ میکرومولار رتینوئیک اسید تمام ترانس بود که بیشترین تاثیر را روی القای تمایز سلولی داشت بنابراین نتایج بدست آمده نشان می دهد که رتینوئیک اسید تمام ترانس می تواند باعث القای تمایز سلولی در سرطان معده شود و از تکثیر آنها جلوگیری کند.

مکانیسم تاثیر رتینوئیک اسید تمام ترانس شامل کاهش سطح سیکلینD1 وتوقف چرخه سلولی در مرحله G0/G1 می باشد و با افزایش سطح پروتئینP21 باعث افزایش آپوپتوز می شود(۱۵،۱۶). در این مطالعه نیز نتایج حاصل از ارزیابی کلونی با رنگ آمیزی کریستال ویوله نشان داد که رقت های بالای رتینوئیک اسید تمام ترانس باعث کاهش تعداد کلونی ها شده ولی رقت پایین باعث افزایش تعداد کلونی ها نسبت به گروه کنترل می شود.

محققان نشان داده اند که رتینوئیک اسید در غلظت های پایین با اتصال به رسپتور PPARb/d باعث تکثیر سلولی و مهار آپوپتوز می شود ولی در غلظت های بالا با اتصال به رسپتور RAR باعث توقف رشد سلولی میگردد(۱۷).

مطالعه لیو و همکارانش نشان داد که استفاده از رتینوئیک اسید تمام ترانس همراه با دارو های ضد سرطانی سیس پلاتین یا ۵ فلوئوروواوراسیل بر روی رده سلولی ملانوما، باعث اختلال در سنتز DNA و القائ اپوپتوز می شود(۵) و در موشهای مبتلا به ملانوما باعث کاهش اندازه و تعداد نودول های متاستاز دهنده ریه می گردد. همچنین در مطالعه دیگری ساکس وهمکارانش اثرات هم افزایی بین رتینوئیک اسید تمام ترانس وسیس پلاتین و5-FLU را در یک سری از رده های سرطان سلول سنگفرشی گزارش کردند(۱۸).

نتیجه نهایی:

این مطالعه نشان داد که استفاده از رتینوئیک اسید با داروی سیس پلاتین می تواند در آینده به عنوان ترکیب درمانی موثر در درمان سرطان های دستگاه گوارشی همچون معده موثر واقع شود.

سپاسگزاری:

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل می باشد. نویسندگان بر خود لازم می دانند که از آقای دکتر شهاب بهلولی دکترای تخصصی داروسازی به خاطر مساعدت و همکاری در این مطالعه قدردانی نمایند.

منابع :

1. Hahn WC, Weinberg RA. Rules for making human tumor cells. N Eng J Med 2002;347(20): 1593-603.
2. Spillane JB, Henderson MA. Cancer stem cells: A review. ANZ J Surg 2007;77(6):464-8.
3. Babaei M, Pourfarzi F, Yazdanbod A, Chiniforush MM, Derakhshan MH, Mousavi SM, et al. Gastric cancer in Ardabil, Iran. A review and update on cancer registry data. APJCP 2010;11(3):595-9.
4. Liu S, Wu Q, Che Z, Su W. The effect pathway of retinoic acid through regulation of retinoic acid receptor alpha in gastric cancer cells. World J Gastroenterol 2001;7(5):662-6.
5. Liu X, Chan SY, Ho PC. Comparison of the in vitro and in vivo effects of retinoids either alone or in combination with cisplatin and 5-fluorouracil on tumor development and metastasis of melanoma. Cancer Chemother

Archive of SID
www.SID.ir

Pharmacol 2008;63(1):167-74.
6. Aebi S, Kroning R, Cenni B, Sharma A, Fink D, Los G ,et al. All-trans retinoic acid enhances cisplatin-induced apoptosis in human ovarian adenocarcinoma and in squamous head and neck cancer cells. Clinical cancer research : An official. J Am Assoc Cancer Res1997;3(11):203.
7. Reedijk J, Lohman PH. Cisplatin: synthesis, antitumour activity and mechanism of action. Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition 1985; 7(5):173-80.
8. Wang G, Reed E, Li QQ. Molecular basis of cellular response to cisplatin chemotherapy in non-small cell lung cancer (Review). Oncol Rep 2004;12(5):955-65.
9. Jafari N, Bohlooli S, Mohammadi S, Mazani M. Cytotoxicity of methylsulfonylmethane on gastrointestinal (AGS, HepG2, and KEYSE-30) cancer cell lines. J Gastrointestinal Cancer 2012; 43(3):420-5.
10. Munshi A, Hobbs M, Meyn RE. Clonogenic cell survival assay. Methods Mol Med 2005; 110:21-8.
11. Siddik ZH. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. Oncogene 2003; 22(47):7265-79.
12. Fang JY, Xiao SD. Effect of trans-retinoic acid and folic acid on apoptosis in human gastric cancer cell lines MKN-45 and MKN-28. J Gastroenterol 1998;33(5):656-61.
13. Huang M, Ye YC, Chen S, Chai JR, Lu JX, Zhoa L, et al. Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. Blood 1988;72(2):567-72.
14. Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, Thiede C, Orlando SM, Iacobelli S, et al. Retinoic acid and arsenic trioxide for acute promyelocytic leukemia. N Eng J Med 2013;369(2):111-21.
15. Hayashi K, Yokozaki H, Naka K, Yasui W, Lotan R, Tahara E. Overexpression of retinoic acid receptor β induces growth arrest and apoptosis in oral cancer cell lines. Cancer Sci 2001;92(1):42-50.
16. Wu Q, Chen Z, Su W. Growth inhibition of gastric cancer cells by all-trans retinoic acid through arresting cell cycle progression. Chinese Med J 2001;114(9):958-61.
17. Soprano KJ, Soprano DR. Retinoic acid receptors and cancer. J Nutr 2002; 132(12): 3809S-13S.
18. Sacks PG, Harris D, Chou TC. Modulation of growth and proliferation in squamous cell carcinoma by retinoic acid: A rationale for combination therapy with chemotherapeutic agents. Int J Cancer 1995;61(3):409-15.

Archive of SID

www.SID.ir

Original Article

Effects of all Trans Retinoic Acid Combined with Cisplatin on Survival of Gastric Cancer Cell Line (AGS)

N. Najafzadeh, Ph.D.[*]; A. Abbasi, M.Sc.[**]; M. Mazani, Ph.D.[***]; M. Amani, Ph.D.[****]

Received: 17.4.2013 Accepted: 8.7.2013

Abstract

Introduction & Objective: All-trans retinoic acid, a derivative of retinoids, is widely used to induce prolifferation, differentiation and apoptosis in normal, precancareous and cancerous cells. Cisplatin, an effective drug for cancer treatment, induces apoptosis via cross-linking to DNA. Previous studies on ovarian and melanoma cancer cells have showed synergistic effects of cisplatin and retinoic acid. Our aim is to study such synergistic effect on gastric derived cell line, AGS.

Materials & Methods: In this experimental study gastric cancer cell line was cultured with different concentration of retinoic acid and cisplatin and their combination. The cell death was evaluated with clonogenic assay and Acridine Orange/ Ethidium Bromide staining.

Results: The results showed that all-trans retinoic acid had not significant effect on cell death in gastric cancer. The results showed that high doses of retinoic acid and cisplatin can cause cell death via necrosis and early apoptosis, respectively. The plates were treated with the combination of 10 µM retinoic acid and 5, 10 µg cisplatin, and more cell death were observed ($P<0.001$). It seems that, suseptability of this cell line to retinoic acid is dose dependent.

Conclusion: In this study, we concluded that the combination of retinoic acid and cisplatin was more effective on cell death than cisplatin and retinoic acid alone.

(Sci J Hamadan Univ Med Sci 2013; 20 (3):207-214)

Keywords: Apoptosis / Cell Line / Cisplatin / Stomach Neoplasms / Tretinoin

* Assistant Professor, Department of Anatomy & Pathology, School of Medicine
Ardabil University of Medical Sciences & Health Services, Ardabil, Iran.
** M.Sc. in Biochemistry, Ardabil University of Medical Sciences & Health Services, Ardabil, Iran. (nowruz30@gmail.com)
*** Assistant Professor, Department of Biochemistry, School of Medicine
Ardabil University of Medical Sciences & Health Services, Ardabil, Iran.
**** Associate Professor, Department of Biophysics, School of Medicine
Ardabil University of Medical Sciences & Health Services, Ardabil, Iran.

www.SID.ir