

Original Article

Glucose enhances the MTX chemotherapy resistance through CXCR4 expression in acute lymphoblastic leukemia

Lemarudin Qiami ^{1,2}, Gholamreza Anani Sarab ³, Seyed Mehdi Sajjadi ³, Maryam Khodabakhshi ⁴,
Fatemeh Bahraini ¹, Mahtab Sayadi ^{3*}

¹ Student Research Committee, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

² Department of Hematology, French Medical Institute for Mothers and Children, Kabul, Afghanistan

³ Cellular and Molecular Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

⁴ Department of Surgical Technology, School of Allied Medical Sciences, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

*Corresponding author: Mahtab Sayadi

Tel: +989124148263

E-mail: sayadi.mahtab@tahoo.com

ABSTRACT

Background and Aims: Diabetes increases the risk of hematological malignancies, including acute lymphoblastic leukemia (ALL). Hyperglycemia-induced glycosylation activates signaling pathways and alters gene expression, including CXCR4, which is associated with resistance to cancer therapy. This study was designed to investigate the effect of a hyperglycemic environment on CXCR4 expression and its role in cell viability and methotrexate (MTX) resistance in ALL.

Materials and Methods: In this *in vitro* study, Nalm-6 cells were cultured in a high-glucose (hyperglycemic) medium for 10 days to develop a hyperglycemia model. The cells were then divided into four groups: control, MTX (300 nM), high glucose, and high glucose + MTX. Cell viability was assessed after 48 hours using the MTT assay. The mRNA expression level of the CXCR4 gene was measured by quantitative real-time PCR (qRT-PCR), and cell cycle phase analysis was performed by flow cytometry.

Results: Cell viability was 45% in the MTX group and 82% in the high glucose + MTX group. CXCR4 expression increased approximately 25-fold in the high glucose group and 16-fold in the high glucose + MTX group compared to the control group, while MTX alone caused only a slight increase. Cell cycle analysis revealed that MTX treatment arrested cells in the G1 phase regardless of glucose levels, whereas high glucose alone caused an S-phase arrest.

Conclusion: The findings indicated that a hyperglycemic environment upregulated CXCR4 expression, enhanced cell viability in the presence of MTX, and may contribute to chemotherapy resistance in ALL. This highlights a potential link between diabetes-associated hyperglycemia, CXCR4 overexpression, and decreased chemosensitivity in leukemia.

Keywords: Acute Lymphoblastic Leukemia, CXCR4, Diabetes, Glucose, Methotrexate



Citation: Qiami L, Anani Sarab Gh, Sajjadi SM, Khodabakhshi M, Bahraini F, Sayadi M. [Glucose enhanced enhances MTX chemotherapy resistance through CXCR4 expression in acute lymphoblastic leukemia]. Journal of Translational Medical Research. 2025; 32(4): 285-294. [Persian]

DOI <http://doi.org/10.61882/JBUMS.32.4.285>

Received: November 26, 2025

Accepted: December 29, 2025



Copyright © 2025, Journal of Translational Medical Research. This open-access article is available under the Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 (CC BY-NC 4.0) International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which allows for the copying and redistribution of the material only for noncommercial purposes, provided that the original work is properly cited.

گلوکز از طریق افزایش بیان CXCR4، مقاومت به متوترکسات را در لوسمی لنفوبلاستیک حاد تقویت می‌کند.

لمرالدین قیامی^۱ ID، غلامرضا عنانی سراب^۲ ID، سید مهدی سجادی^۳ ID، مریم خدابخشی^۴ ID، فاطمه بحرینی^۱ ID، مهتاب صیادی^{۳*} ID

چکیده

زمینه و هدف: دیابت، خطر بروز بدخیمی‌های خونی از جمله لوسمی لنفوبلاستیک حاد (ALL) را افزایش می‌دهد. گلیکوزیلاسیون ناشی از هیپرگلیسمی، مسیرهای پیام‌رسانی را فعال کرده و بیان ژن‌هایی مانند CXCR4 را تغییر می‌دهد که با مقاومت در برابر درمان سرطان مرتبط است. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر محیط هیپرگلیسمیک بر بیان CXCR4 و نقش آن در زنده‌مانی سلولی و مقاومت به متوترکسات در ALL طراحی شد.

روش تحقیق: در این مطالعه بنیادی، سلول‌های Nalm-6 به مدت ۱۰ روز در محیط هیپرگلوکز کشت داده شدند تا مدل هیپرگلیسمی ایجاد شود. سپس سلول‌ها به چهار گروه تقسیم شدند: شاهد، متوترکسات (۳۰۰ نانومولار)، هیپرگلوکز و هیپرگلوکز + متوترکسات. بقای سلولی پس از ۴۸ ساعت با استفاده از آزمون MTT ارزیابی شد. سطح بیان mRNA ژن CXCR4 با روش Real-time PCR (qRT-PCR) سنجیده شد و آنالیز فازهای چرخه سلولی با فلوسیتومتری انجام شد.

یافته‌ها: میزان بقای سلولی در گروه متوترکسات ۴۵ درصد و در گروه هیپرگلوکز + متوترکسات ۸۲ درصد بود. بیان CXCR4 در گروه هیپرگلوکز و گروه هیپرگلوکز + متوترکسات به ترتیب حدود ۲۵ و ۱۶ برابر نسبت به گروه شاهد افزایش داشت، در حالی که متوترکسات به تنهایی تنها سبب افزایش اندکی شد. آنالیز چرخه سلولی نشان داد که تیمار با متوترکسات، صرف‌نظر از سطح گلوکز، سلول‌ها را در فاز G1 متوقف کرد، درحالی‌که گلوکز بالا به تنهایی باعث توقف در فاز S شد.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان می‌دهند که محیط هیپرگلیسمیک، بیان CXCR4 را افزایش می‌دهد، بقای سلولی را در حضور متوترکسات تقویت می‌کند و ممکن است به مقاومت شیمی‌درمانی در ALL کمک کند. این موضوع، ارتباط احتمالی بین هیپرگلیسمی مرتبط با دیابت، بیان بیش از حد CXCR4 و کاهش حساسیت شیمیایی در لوسمی را برجسته می‌سازد.

واژه‌های کلیدی: لوسمی لنفوبلاستیک حاد، CXCR4، دیابت، گلوکز، متوترکسات

مجله "تحقیقات پزشکی ترجمانی". ۱۴۰۴؛ ۳۲ (۴): ۲۹۴-۲۸۵.

دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۰۵ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۸

^۱ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

^۲ گروه هماتولوژی، مؤسسه پزشکی فرانسه برای مادران و کودکان، کابل، افغانستان

^۳ مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

^۴ گروه تکنولوژی اتاق عمل، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

*نویسنده مسئول: مهتاب صیادی

آدرس: بیرجند- دانشگاه علوم پزشکی بیرجند- دانشکده پیراپزشکی- گروه هماتولوژی

تلفن: ۰۹۱۲۴۱۴۸۲۶۳ پست الکترونیکی: sayadi.mahtab@yahoo.com

مقدمه

علیرغم پیش‌آگهی خوب کودکان مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد (ALL^1)، بروز مقاومت دارویی منجر به عود تومور، شکست درمان و در نهایت مرگ می‌شود. با وجود اثرات مطلوب پیوند سلول‌های بنیادی آلوژنیک و شیمی‌درمانی تهاجمی در درمان ALL عودکرده کودکان، نرخ بقای کلی ۴۰ تا ۶۰ درصد است (۱). ثابت شده است که حساسیت سلول‌های سرطانی به داروهای شیمی‌درمانی، تحت تأثیر تغییرات متابولیک قرار می‌گیرد (۲، ۳). سلول‌های سرطانی برای تکثیر و سازگاری با تغییرات محیطی، مجبور به تغییر در متابولیسم گلوکز خود هستند. این مکانیسم‌ها منجر به افزایش معادلی در مصرف و ذخیره گلوکز و همچنین افزایش استفاده از گلوتامین برای سنتز ماکرومولکول‌ها می‌شوند (۴). به علاوه، این ویژگی سلول‌های سرطانی می‌تواند در یک محیط گذرای هیپرگلیسمی یا در وضعیت مزمن هیپرگلیسمی، مانند موارد دیابت از قبل موجود، تشدید شود. سطوح مزمن بالای گلوکز خون در بدن، با فعال‌سازی چندین مسیر پیام‌رسانی از جمله PI3K، PKC، mTOR، Akt، MAPK، Ras و Raf، پیشرفت سرطان را تسریع می‌کند (۵). هیپرگلیسمی علاوه بر افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS^2)، عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی سلولی را نیز کاهش می‌دهد. این فرآیند با افزایش تولید فرآورده‌های نهایی پیشرفته گلیکوزیله (AGE^3) همراه است (۶). در بیماران دیابتی، تولید فزاینده AGEs و اتصال این فرآورده‌ها به گیرنده‌های سطح سلول، منجر به فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی سلولی و القای بیان ژن‌های متأثر از هیپرگلیسمی، از جمله c-Myc، A20 و Heme-oxygenase-1 می‌شود (۷). استرس اکسیداتیو باعث ایجاد شکست در DNA دو رشته‌ای، افزایش اکسیداسیون بازهای DNA و جایگزینی بازها شده و با بروز سرطان مرتبط است (۸). پژوهش‌های اپیدمیولوژیک دهه‌های گذشته، ارتباطی بین دیابت و طیفی از بدخیمی‌ها از جمله سرطان‌های کولورکتال، پستان، کبد، کلیه و معده را نشان داده‌اند. به باور پژوهشگران، ابتلا به دیابت یا

¹ Acute Lymphoblastic Leukemia² Reactive Oxygen Species³ Advanced Glycation End products

وضعیت پیش‌دیابت، خطر بروز سرطان را افزایش می‌دهد (۹). در ارتباط با سرطان‌های خونی، دیابت یک عامل خطر برای مرگ‌ومیر به هر علت و همچنین مرگ‌ومیر مرتبط با علت خاص محسوب شده و با احتمال بالاتر بروز بدخیمی‌های هماتولوژیک مرتبط است (۱۰). در کودکان مبتلا به ALL که تحت درمان القایی با فرآورده‌های آسپاراژیناز و گلوکوکورتیکوئیدها قرار می‌گیرند، هیپرگلیسمی به کرات مشاهده می‌شود (۱۱). متوترکسات (MTX) داروی اصلی و کلیدی در درمان نگهدارنده ALL کودکان و نیز پیشگیری از درگیری سیستم عصبی مرکزی است؛ با این وجود، بروز مقاومت در برابر متوترکسات همچنان یک نگرانی عمده به شمار می‌رود (۱۲). مشخص شده است که مقاومت دارویی و عود بیماری به تداخلات بین سلول‌های ALL و ریز محیط مغز استخوان بستگی دارد که سیگنال‌های تحریک‌کننده تکثیر و بازدارنده آپوپتوز را تولید می‌کنند (۱۳). سلول‌های خون‌ساز، بیان قابل‌توجهی از گیرنده ۴ کموکاین CXC (CXCR4) را نشان می‌دهند که در مطالعات بالینی با پیامدهای ضعیف‌تر در بیماران مبتلا به ALL نوع B مرتبط بوده است (۱۴). بلاست‌های لوسمی که CXCR4 را بیش از حد بیان می‌کنند، توانایی بیشتری برای استقرار در مغز استخوان داشته و نسبت به شیمی‌درمانی مقاوم‌تر هستند (۱۵).

در مطالعه حاضر، اثر گلوکز افزایش‌یافته بر بیان CXCR4 و ارتباط آن با مقاومت رده سلولی ALL به شیمی‌درمانی، همراه با همزمانی آن با تغییرات چرخه سلولی، مورد بررسی قرار گرفت.

روش تحقیق

مواد شیمیایی و معرف‌ها

سرم جنین گاوی (FBS) و محیط کشت (RPMI-1640) از شرکت گیبکو (Gaithersburg, MD) تهیه شد. متیل تیازول تترازولیوم (MTT)، گلوکز و یدید پروپیدوم (PI) از شرکت سیگما-آلدריך (Sigma Aldrich, MO, USA) خریداری شد.

رده سلولی

سلول‌های NALM-6 به عنوان رده سلولی ALL، از مؤسسه

آنالیز چرخه سلولی با فلوسیتومتری

تأثیر تیمار بر پیشرفت چرخه سلولی با استفاده از تکنیک فلوسیتومتری ارزیابی شد. تعداد 3×10^5 سلول تیمار شده از هر گروه با اتانول ۷۰٪ در دمای پایین فیکس شدند. پس از حذف اتانول و سوسپانسه کردن مجدد سلول‌ها در PBS، سلول‌ها در دو مرحله انکوبه شدند: یک بار به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس با RNase (۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر) و تریتون (۰/۵٪) و یک بار به مدت دو ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس در تاریکی با رنگ یدید پروپیدیوم (PI) (۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر). فازهای چرخه سلولی در کانال FL2 دستگاه فلوسیتومتر (FACS Aria; BD Biosciences) در طول موج ۴۸۸ نانومتر بررسی شد.

آنالیز کمی Real-time PCR

بیان mRNA ژن CXCR4 با استفاده از روش کمی Real-time PCR (qRT-PCR) انجام شد. در مرحله اول، RNA از گروه‌های تیمار شده با استفاده از معرف (Invitrogen TRIzol (Life Technologies, CA, USA) استخراج گردید. سپس cDNA با کیت شرکت Qiagen (UK) سنتز شد تا qRT-PCR انجام شود. این تست با استفاده از مخلوط اصلی SYBR Green PCR (Invitrogen Life Technologies, CA, USA) انجام شد. پرایمر CXCR4 (۵'-CATCAGTCTGGACCGCTACC-3', Reverse: 5'-GGCAGGATAAGGCCAACCAT-3') و پرایمر GAPDH (۵'-AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG-3', Reverse: 5'-CATACTCAGCACCAGCATCACC-3') به عنوان کنترل داخلی انجام شد.

آنالیز آماری

نتایج آزمایش‌ها پس از انجام حداقل سه بار تکرار، با استفاده از نرم افزار آماری GraphPad Prism 8.0 مورد تحلیل قرار گرفت. ارزیابی آماری مقایسه‌ای بین گروه‌ها با استفاده از آزمون

پاستور ایران، تهران خریداری شد. این سلول‌ها در محیط RPMI-1640 حاوی ۲ میلی مولار L-گلوتامین، ۱٪ پنی سیلین/استرپتومایسین و ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و شرایط اتمسفر ۵٪ دی اکسید کربن، مطابق با دستورالعمل شرکت کشت داده شدند.

طراحی مطالعه

پس از کشت سلول‌ها در فلاسک T25 در شرایط بهینه ذکر شده و رسیدن به تراکم ۷۰ درصدی، نیمی از سلول‌ها به فلاسک دیگری حاوی محیط هیپرگلوز منتقل شده و به مدت ۱۰ روز تحت تیمار قرار گرفتند. در واقع، سلول‌ها با توجه به غلظت گلوز در محیط کشت به دو گروه تقسیم شدند: هیپرگلوز (۱۰۰ میلی مولار) (G) و گلوز طبیعی (C). بسته به نوع آزمایش، سلول‌های هر گروه به پلیت‌های ۹۶، ۱۲ یا ۶ چاهی منتقل شده و به دو زیرگروه تقسیم شدند: یک زیرگروه که به مدت ۴۸ ساعت با غلظت IC50 متوترکسات (۳۰۰ نانومولار) (G+MTX/ C+MTX) تیمار شدند و گروه دیگر که به عنوان گروه شاهد با متوترکسات تیمار نشدند.

آزمون سنجش MTT

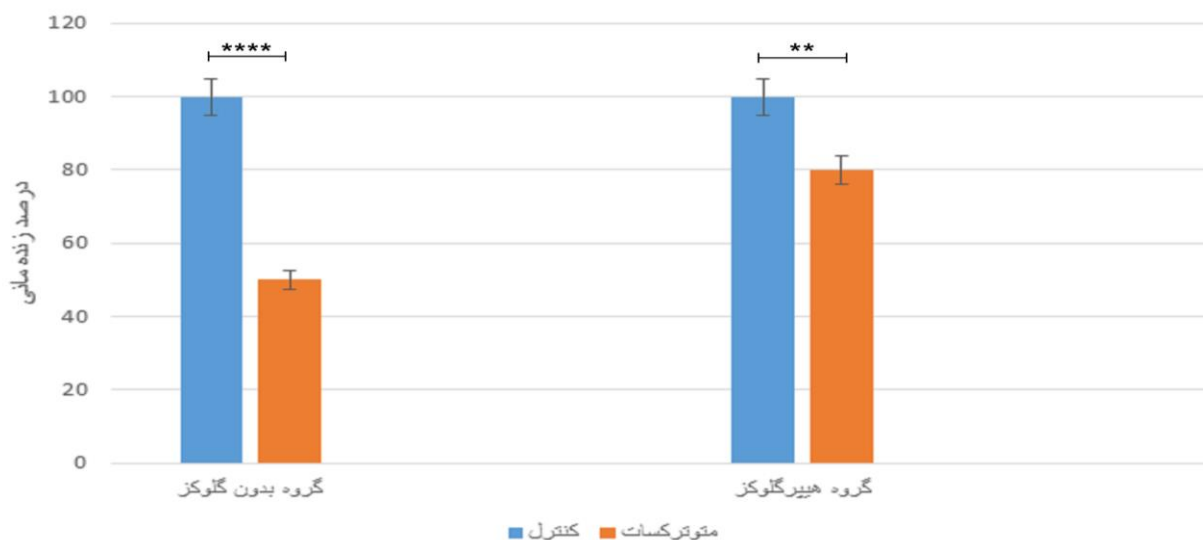
تأثیر تیمار بر ظرفیت تکثیر سلولی با استفاده از آزمون MTT بررسی شد. پس از تیمار سلول‌ها در شرایط هیپرگلوز و گلوز طبیعی، تعداد 1.5×10^3 سلول در هر چاهک کشت داده شده و مطابق با طرح تیمار، با متوترکسات تیمار شدند. پس از یک دوره انکوباسیون ۴۸ ساعته، سلول‌ها به مدت ۳ ساعت در معرض ۱۰ میکرولیتر از معرف MTT (با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر برای هر چاهک) قرار گرفتند. پس از حل شدن کریستال‌های فورمازان تشکیل شده در ۱۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفواکسید (DMSO)، جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (Biotech) در طول موج‌های ۵۷۰ و ۶۳۰ نانومتر اندازه گیری شد. برای محاسبه زنده ماندن سلولی هر گروه، آزمایش سه بار تکرار شد و میزان جذب نوری هر گروه با گروه شاهد مقایسه گردید.

ANOVA یکطرفه انجام شد. آنالیزها در $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شدند. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین (SEM) گزارش شدند.

یافته‌ها

حساسیت سلول‌های سرطانی به متوترکسات در حضور گلوکز بالا کاهش می‌یابد.

تأثیر گلوکز بالا بر سمیت سلولی متوترکسات بر رده سلولی

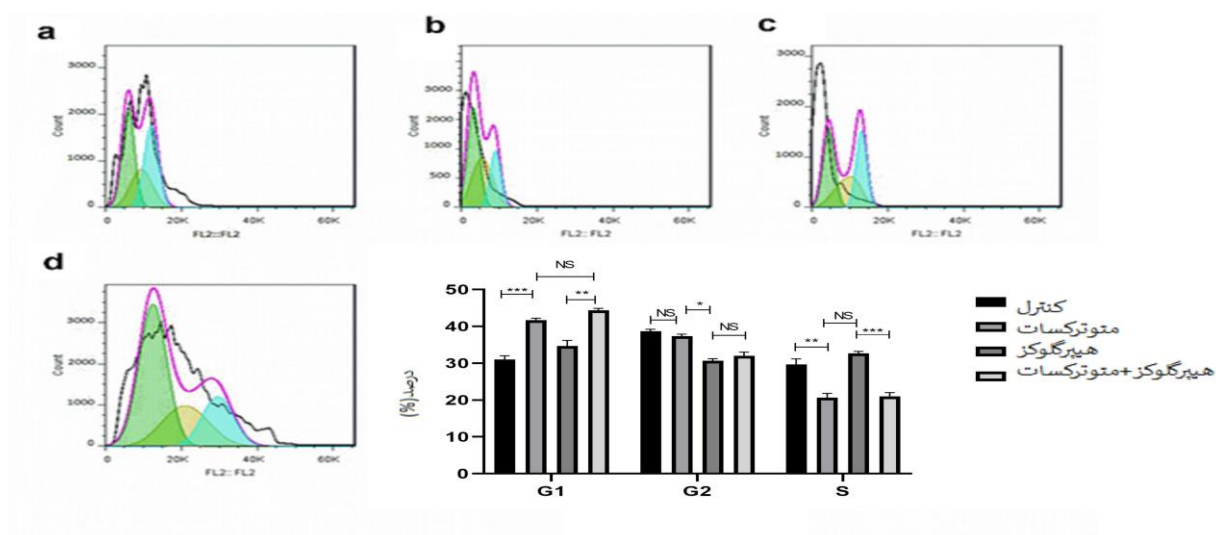


شکل ۱- تأثیر گلوکز بالا و شیمی‌درمانی با متوترکسات بر زنده‌مانی سلول‌های NALM-6. تیمار با متوترکسات در شرایط گلوکز طبیعی (MTX)، در مقایسه با گروه شاهد (control)، تقریباً نیمی از سلول‌ها را از بین برد (a). در حالی که تیمار با متوترکسات در شرایط هایپرگلوکز (MTX+G)، کمتر از نیمی از سلول‌ها را در مقایسه با سلول‌های شاهد هایپرگلوکز (G) از بین می‌برد (b). ($n=3$; $P < 0.01$: **, $P < 0.0001$: ****)

در فاز S در گروه تیمار شده با متوترکسات در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت ($P=0.003$)، اما با گروه تیمار شده با متوترکسات و گلوکز بالا تفاوتی مشاهده نشد ($P=0.059$). شایان ذکر است که گلوکز بالا به تنهایی، در مقایسه با درمان ترکیبی گلوکز بالا و متوترکسات، درصد سلول‌های در فاز G2 را کاهش و درصد سلول‌های در فاز S را افزایش داد (به ترتیب $P=0.005$ و $P < 0.001$) اما حضور گلوکز افزایش‌یافته، تأثیری بر اثرات متوترکسات بر تغییر چرخه سلولی نداشت (شکل ۲).

گلوکز بالا تأثیری بر الگوی چرخه سلولی ناشی از شیمی‌درمانی متوترکسات نداشت.

با آنالیز محتوای DNA رنگ‌آمیزی شده سلول‌ها به وسیله فلوسیتومتری و تفسیر هیستوگرام مربوطه، می‌توان فازهای اصلی سلولی (S, G1, و G2) و سلول‌های آپوپتوتیک را تعیین کرد. یافته‌ها نشان داد که اگرچه درصد سلول‌های در فاز G1 در گروه متوترکسات در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود ($P < 0.001$)، اما این مقدار از نظر آماری با گروه تیمار شده با گلوکز بالا و متوترکسات تفاوت معنی‌داری نداشت ($P=0.057$). نسبت سلول‌های



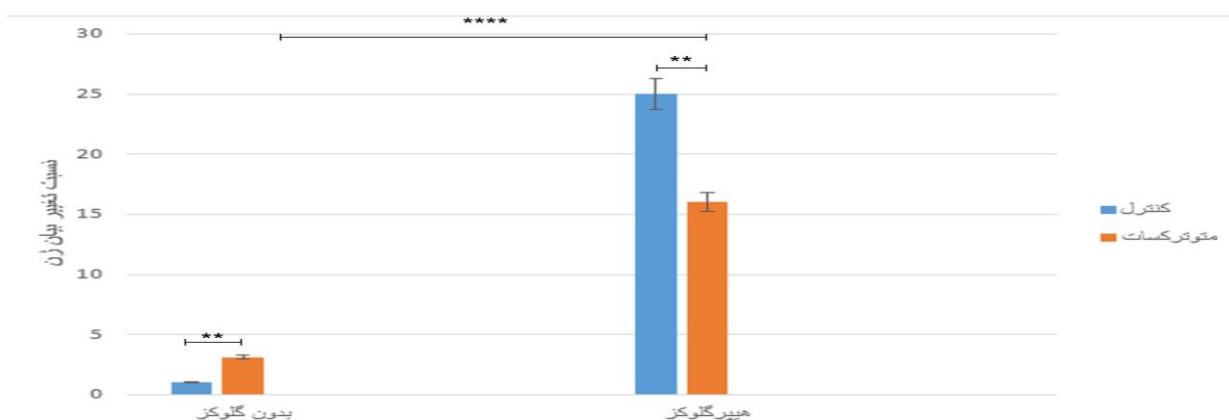
شکل ۲- تأثیر گلوکز بالا و شیمی درمانی با متوترکسات بر چرخه سلولی NALM-6. هیستوگرام‌های چرخه سلولی گروه شاهد (control) (A)، گروه متوترکسات (MTX) (B)، گروه هیپرگلوکز (G) (C) و گروه متوترکسات + هیپرگلوکز (MTX+G) (D). آنالیز آماری هیستوگرام‌ها نشان می‌دهد که اگرچه تیمار با گلوکز بالا باعث توقف چرخه سلولی در فاز S شد، اما تیمار با متوترکسات در شرایط هیپرگلوکز و گلوکز طبیعی، الگوی تکرارپذیر از توقف سلول‌ها در فاز G1 را ایجاد کرد. (NS: غیرمعنادار، * $P < 0.05$ ، ** $P < 0.01$ ، *** $P < 0.001$)

بالا الگوی بیان CXCR4 تحت تأثیر شیمی‌درمانی را تغییر می‌دهد.

افزایش ۲۵ برابری بیان mRNA این ژن در حضور گلوکز افزایش‌یافته، نشان می‌دهد که گلوکز بالا ممکن است تأثیر قابل‌توجهی بر الگوی بیان mRNA این ژن داشته باشد ($P < 0.001$) (شکل ۳).

بیان mRNA القاشده توسط متوترکسات CXCR4 در حضور گلوکز بالا افزایش می‌یابد.

تأثیر متوترکسات بر بیان کمی ژن CXCR4 در حضور گلوکز بالا با استفاده از RT-PCR بررسی شد. یافته‌ها نشان داد که درمان با متوترکسات، بیان نسبی mRNA ژن CXCR4 را در حضور گلوکز بالا حدود ۱۶ برابر و در شرایط گلوکز طبیعی ۳/۱ برابر افزایش داد (به ترتیب $P < 0.001$ و $P = 0.06$) در واقع، حضور گلوکز



شکل ۳- تأثیر گلوکز بالا و شیمی‌درمانی با متوترکسات بر بیان mRNA ژن CXCR4 در سلول‌های NALM-6. افزایش بیان CXCR4 در سلول‌های تیمار شده با گلوکز بالا نسبت به گروه شاهد (control) و نیز در گروه تیمار شده با متوترکسات و هیپرگلوکز (G+MTX) نسبت به گروه متوترکسات به تنهایی (MTX) مشاهده شد. (**** $P < 0.0001$, n=3).

بحث

در مطالعه حاضر یک همبستگی مثبت بین مقاومت به شیمی‌درمانی متوترکسات و سطوح بیان بالای CXCR4 در رده‌های سلولی ALL تحت شرایط هیپرگلوکز کشف شد. درمان بالینی تومورهای مقاوم به‌طور قابل توجهی توسط مقاومت شیمیایی تومورها مختل می‌شود و این تومورها پس از مصرف داروهای خط اول و هدفمند، مهاجم‌تر شده‌اند (۱۶). درک بهتر مکانیسم‌های اساسی ایجاد مقاومت دارویی که به شدت مورد نیاز است، زمینه را برای توسعه رویکردهای درمانی نوآورانه و بهبود نتایج بالینی فراهم خواهد کرد.

در این مطالعه، افزایش بقای سلولی و مقاومت سلول‌های NALM-6 تیمار شده با دوز یکسان متوترکسات در شرایط هیپرگلوکز در مقایسه با گروه شاهد نشان داده شد. رشد، مهاجرت، فرار ایمنولوژیک و تهاجم سلول‌های سرطانی همگی توسط مجموعه‌ای از فرآیندهای (مستقیم و غیرمستقیم) که تحت تأثیر سطوح بالای گلوکز قرار می‌گیرند، تقویت می‌شوند (۱۷، ۱۸). بر اساس اثر Warburg، یک سلول سرطانی که گلیکولیز بی‌هوازی را انجام می‌دهد، به اندازه کافی ATP و پیش‌سازهای متابولیک تولید می‌کند تا فرآیندهای آنابولیک مورد نیاز برای تکثیر سریع سلولی را پشتیبانی کند (۱۹). به‌طور خاص، گلوکز افزایش‌یافته، تکثیر سلولی را تحریک کرده و هیپرگلیسمی مرتبط با دیابت را از طریق تحریک مسیر پیام‌رسانی Wnt در سلول‌های توموری، به بدخیمی مرتبط می‌سازد (۲۰، ۲۱). Chauhan و همکاران نشان دادند که شرایط هیپرگلوکز با فعال‌سازی مسیر متعارف Wnt، مهار DKK4 و افزایش سطوح β -catenin، باعث افزایش تکثیر و تعداد سلول‌های کارسینوم هپاتوسلولار در فاز S می‌شود (۲۲). همچنین، چندین مطالعه به نقش گلوکز در افزایش زنده‌مانی سلولی در گلیوبلاستوما و سرطان‌های کولون، پستان و پانکراس اشاره کرده‌اند (۲۳). Huang و همکاران آشکار ساختند که قرارگیری ۵-فلورواوراسیل در محیط غنی‌شده با گلوکز، سمیت سلولی آن را بر روی رده‌های سلولی سرطان کولورکتال کاهش داده و اندازه تومور را در مدل‌های حیوانی زنگرافت افزایش می‌دهد (۲۴).

علاوه بر این، پژوهش حاضر به بررسی نحوه تأثیر گلوکز بالا بر چرخه سلولی در طول شیمی‌درمانی با متوترکسات پرداخت. یافته‌ها افزایش سلول‌های در فاز S در حضور گلوکز بالا را نشان داد، اما بین فازهای مختلف در گروه‌های تیمار شده با متوترکسات در شرایط هیپرگلوکز و گلوکز طبیعی، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نرخ کاهش‌یافته مرگ سلولی و تغییرات ناچیز در فازهای چرخه سلولی در این دو گروه، نشان می‌دهد که مقاومت به آپوپتوز مستقل از چرخه سلولی عمل می‌کند. Yamamoto و همکاران گزارش کردند که در رده سلولی عضله صاف عروقی (سلول‌های A10)، گلوکز بالا از طریق کاهش بیان پروتئین کیناز C- β II درونزاد، باعث افزایش تکثیر سلولی با افزایش سنتز DNA و نسبت سلول‌های واردشونده به فاز S در مقایسه با گلوکز طبیعی شد (۲۵). Spurlock و همکاران نشان دادند که متوترکسات با افزایش بیان p21 و p53 از طریق مسیرهای وابسته به JNK1 و JNK2، بیان p27 تحت تنظیم p53 و تولید ROS، حساسیت سلول‌های T فعال به آپوپتوز را افزایش داده و سلول‌ها را در فاز G1 متوقف می‌کند (۲۶). با توجه به آنچه بیان شد، ممکن است مسیر Wnt مسئول توقف سلول‌های تیمار شده با گلوکز بالا در فاز S باشد و اثرات p21 و p27 ممکن است در توقف سلول‌های تیمار شده با متوترکسات در فاز G2 نقش داشته باشند.

در این مطالعه، توقف سلول‌ها در هر دو گروه هیپرگلوکز و گلوکز طبیعی که با متوترکسات تیمار شده بودند، نشان داد که این دارو می‌تواند با مکانیسمی متفاوت، ورود چرخه سلولی به فاز G2/S را مهار کرده و باعث توقف سلول‌ها در فاز G1 شود. علاوه بر این یافته‌ها، سطح رونوشت ژن CXCR4 در رده سلولی Nalm-6 نیز ارزیابی شد. سطح بیان این ژن در شرایط هیپرگلوکز ۲۵ برابر و در گروه تیمار شده با متوترکسات در شرایط هیپرگلوکز ۱۶ برابر نسبت به گروه شاهد افزایش یافته بود که نشان‌دهنده نقش بالقوه این ژن در مقاومت به شیمی‌درمانی است. Li و همکاران نشان دادند که پپتید E5 با مهار اتصال CXCR4/CXCL12، سلول‌های لوسمی در گردش را از حفاظت ریزمحیط استرومایی آزاد می‌کند. در ترکیب E5 با شیمی‌درمانی، تهاجم سلول‌های لوسمی به مغز استخوان،

معناداری بر تغییرات چرخه سلولی نداشته باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه تحت عنوان "بررسی ارتباط سطح بیان ژن CXCR4 با پاسخ داروی متوترکسات در شرایط هیپرگلوکز در رده سلولی لوسمی لنفوبلاستیک حاد (NALM-6)"، در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۴۰۱ می باشد که در آزمایشگاه مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند انجام شد.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر پس از تأیید شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند و کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بیرجند با کد IR.BUMS.REC.1404.230 انجام شد.

حمایت مالی

این مقاله برگرفته از پایان نامه با کد ۴۵۶۷۶۴ است که با پشتیبانی مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند به انجام رسیده است.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در مراحل مختلف انجام کار و نگارش مقاله مشارکت داشتند.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

طحال و کبد مسدود شده و طول عمر موش های لوسمی را افزایش داد (۲۷). Wang و همکاران آشکار ساختند که در مقایسه با بیماران جدید تشخیص داده شده مبتلا به ALL، افراد مبتلا به ALL مقاوم/عودکننده (R/R) دارای سطوح بیان بالاتری از CXCR4 بودند. آنتاگونیست CXCR4 از طریق مهار مسیر CXCR4/CXCL12 توانست سلول های سرطانی R/R ALL را به شیمی درمانی حساس کرده و مقاومت شیمیایی سلول های بنیادی مزانشیمی را معکوس کند (۲۸). Nengroo و همکاران نشان دادند که CXCR4 درون سلولی با مهار ترجمه DR5، باعث تحریک زنده ماندن سلول های سرطانی، مهار آپوپتوز و تحمل شیمی درمانی می شود (۲۹). سیسون و همکاران ثابت کردند که تجویز همزمان Plerixafor (مهارکننده CXCR4) و شیمی درمانی در مدل های زنگرافت ALL کودکان، منجر به بار لوسمی به طور قابل توجهی پایین تر در مقایسه با شیمی درمانی به تنهایی می شود (۳۰). با توجه به یافته ها و نمونه های ذکر شده، CXCR4 نقش مهمی در تحمل شیمی درمانی توسط سلول های سرطانی ایفا می کند، اما برای تأیید اثرات گلوکز بالا در شیمی درمانی با متوترکسات، انجام پژوهش های بیشتر بر روی مدل های حیوانی لوسمی ضروری است.

نتیجه گیری

شیمی درمانی با متوترکسات در شرایط هیپرگلوکز، باعث افزایش زنده ماندن سلولی و بیان ژن CXCR4 در سلول های NALM-6 شد که نشان دهنده نقش احتمالی گلوکز بالا در ایجاد مقاومت شیمی درمانی در بیماران لوسمی است. چرخه سلولی حتی در شرایط هیپرگلوکز نیز الگوی قابل پیش بینی در پاسخ به متوترکسات را دنبال می کند و به نظر می رسد مقاومت به متوترکسات تأثیر

منابع

1. Cury NM, Mühlethaler T, Laranjeira ABA, Canevarolo RR, Zenatti PP, Lucena-Agell D, et al. Structural basis of colchicine-site targeting acylhydrazones active against multidrug-resistant acute lymphoblastic leukemia. *Iscience*. 2019 Nov 22;21:95-109. DOI: [10.1016/j.isci.2019.10.003](https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.10.003)
2. Rastgar A, Sayadi M, Anani-Sarab G, Sajjadi SM. Astaxanthin decreases the growth-inhibitory dose of cytarabine and inflammatory response in the acute lymphoblastic leukemia cell line NALM-6. *Mol Biol Rep*. 2022;49(7):6415-22. DOI: [10.1007/s11033-022-07452-8](https://doi.org/10.1007/s11033-022-07452-8)

3. Bahraini F, Sayadi M, Safarpour H, Zarban A, Mesbahzadeh B, Sajjadi SM. n-3 polyunsaturated fatty acids enhanced efficacy of cytarabine in iron-overloaded NALM-6 cells via apoptotic and oxidative pathways. *Toxicol In Vitro*. 2024;105976. DOI: [10.1016/j.tiv.2024.105976](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2024.105976)
4. Yadav UP, Singh T, Kumar P, Sharma P, Kaur H, Sharma S, et al. Metabolic adaptations in cancer stem cells. *Front Oncol*. 2020;10:1010. DOI: [10.3389/fonc.2020.01010](https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01010)
5. Dey S, Murmu N, Mondal T, Saha I, Chatterjee S, Manna R, et al. Multifaceted entrancing role of glucose and its analogue, 2-deoxy-D-glucose in cancer cell proliferation, inflammation, and virus infection. *Biomed Pharmacother*. 2022;156:113801. DOI: [10.1016/j.biopha.2022.113801](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113801)
6. Khalid M, Petroianu G, Adem A. Advanced glycation end products and diabetes mellitus: Mechanisms and perspectives. *Biomolecules*. 2022;12(4):542. DOI: [10.3390/biom12040542](https://doi.org/10.3390/biom12040542)
7. Fu Z, R Gilbert E, Liu D. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. *Curr Diabetes Rev*. 2013;9(1):25-53. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22974359/>
8. Sharma V, Collins LB, Chen T-h, Herr N, Takeda S, Sun W, et al. Oxidative stress at low levels can induce clustered DNA lesions leading to NHEJ mediated mutations. *Oncotarget*. 2016;7(18):25377-90. DOI: [10.18632/oncotarget.8298](https://doi.org/10.18632/oncotarget.8298)
9. Abudawood M. Diabetes and cancer: a comprehensive review. *Journal of Research in Medical Sciences*. J Res Med Sci. 2019 Oct 25;24:94. DOI: [10.4103/jrms.JRMS_242_19](https://doi.org/10.4103/jrms.JRMS_242_19)
10. Talebpour A, Alipour R, Sajjadi SM, Osmani F, Sarab GA. In Vitro Cytotoxicity of Ferula asafoetida Gum Extract on Human Chronic Myelogenous Leukemia K562 Cells. *Pharm Chem J*. 2022;56(2):245-53. DOI: [10.1007/s11094-022-02627-w](https://doi.org/10.1007/s11094-022-02627-w)
11. Tsai M-C, Huang H-H, Chou Y-Y, Cheng C-N, Chen J-S, Lin S-J. Risk factors for hyperglycemia during chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia among Taiwanese children. *Pediatr Neonatol*. 2015;56(5):339-45. DOI: [10.1016/j.pedneo.2015.01.008](https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2015.01.008)
12. Rots M, Pieters R, Kaspers G, Veerman A, Peters G, Jansen G. Classification of ex vivo methotrexate resistance in acute lymphoblastic and myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2000;110(4):791-800. DOI: [10.1046/j.1365-2141.2000.02070.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2000.02070.x)
13. Shain K, Tao J. The B-cell receptor orchestrates environment-mediated lymphoma survival and drug resistance in B-cell malignancies. *Oncogene*. 2014;33(32):4107-13. DOI: [10.1038/onc.2013.379](https://doi.org/10.1038/onc.2013.379)
14. Konoplev S, Jorgensen JL, Thomas DA, Lin E, Burger J, Kantarjian HM, et al. Phosphorylated CXCR4 is associated with poor survival in adults with B-acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*. 2011;117(20):4689-95. DOI: [10.1002/cncr.26113](https://doi.org/10.1002/cncr.26113)
15. Peled A, Klein S, Beider K, Burger JA, Abraham M. Role of CXCL12 and CXCR4 in the pathogenesis of hematological malignancies. *Cytokine*. 2018;109:11-6. DOI: [10.1016/j.cyto.2018.02.020](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2018.02.020)
16. Wang X, Zhang H, Chen X. Drug resistance and combating drug resistance in cancer. *Cancer Drug Resist*. 2019;2(2):141-60. DOI: [10.20517/cdr.2019.10](https://doi.org/10.20517/cdr.2019.10)
17. Lin X, Xiao Z, Chen T, Liang SH, Guo H. Glucose metabolism on tumor plasticity, diagnosis, and treatment. *Front Oncol*. 2020;10:317. DOI: [10.3389/fonc.2020.00317](https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00317)
18. Kheyrandish S, Rastgar A, Hamidi M, Sajjadi SM, Sarab GA. Evaluation of anti-tumor effect of the exopolysaccharide from new cold-adapted yeast, *Rhodotorula mucilaginosa* sp. GUMS16 on chronic myeloid leukemia K562 cell line. *Int J Biol Macromol*. 2022;206:21-8. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2022.02.113](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.02.113)
19. Bose S, Zhang C, Le A. Glucose metabolism in cancer: The Warburg effect and beyond. *Adv Exp Med Biol*. 2021;1311:3-15. DOI: [10.1007/978-3-030-65768-0_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-65768-0_1)
20. García-Jiménez C, García-Martínez JM, Chocarro-Calvo A, De la Vieja A. A new link between diabetes and cancer: enhanced WNT/β-catenin signaling by high glucose. *J Mol Endocrinol*. 2014;52(1):R51-R66. DOI: [10.1530/JME-13-0152](https://doi.org/10.1530/JME-13-0152)

21. Mo Y, Wang Y, Zhang L, Yang L, Zhou M, Li X, et al. The role of Wnt signaling pathway in tumor metabolic reprogramming. *J Cancer*. 2019;10(16):3789-97. DOI: [10.7150/jca.31166](https://doi.org/10.7150/jca.31166)
22. Chouhan S, Singh S, Athavale D, Ramteke P, Pandey V, Joseph J, et al. Glucose induced activation of canonical Wnt signaling pathway in hepatocellular carcinoma is regulated by DKK4. *Sci Rep. Scientific reports*. 2016 Jun 8;6(1):27558. DOI: [10.1038/srep27558](https://doi.org/10.1038/srep27558)
23. Kim D-S, Scherer PE. Obesity, diabetes, and increased cancer progression. *Diabetes Metab J*. 2021;45(6):799-812. DOI: [10.4093/dmj.2021.0077](https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0077)
24. Huang C-Y, Huang C-Y, Pai Y-C, Lin B-R, Lee T-C, Liang P-H, et al. Glucose metabolites exert opposing roles in tumor chemoresistance. *Front Oncol*. 2019;9:1282. DOI: [10.3389/fonc.2019.01282](https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01282)
25. Yamamoto M, Acevedo-Duncan M, Chalfant CE, Patel NA, Watson JE, Cooper DR. Acute glucose-induced downregulation of PKC- β II accelerates cultured VSMC proliferation. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2000;279(3):C587-C95. DOI: [10.1152/ajpcell.2000.279.3.C587](https://doi.org/10.1152/ajpcell.2000.279.3.C587)
26. Spurlock III CF, Tossberg JT, Fuchs HA, Olsen NJ, Aune TM. Methotrexate increases expression of cell cycle checkpoint genes via JNK activation. *Arthritis & Rheum*. 2012;64(6):1780-9. DOI: [10.1002/art.34342](https://doi.org/10.1002/art.34342)
27. Li X, Guo H, Duan H, Yang Y, Meng J, Liu J, et al. Improving chemotherapeutic efficiency in acute myeloid leukemia treatments by chemically synthesized peptide interfering with CXCR4/CXCL12 axis. *Sci Rep*. 2015 Nov 5;5:16228. DOI: [10.1038/srep16228](https://doi.org/10.1038/srep16228)
28. Wang S, Wang X, Liu S, Zhang S, Wei X, Song Y, et al. The CXCR4 antagonist, AMD3100, reverses mesenchymal stem cell-mediated drug resistance in relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia. *Onco Targets Ther*. 2020;13:6583-91. DOI: [10.2147/OTT.S249425](https://doi.org/10.2147/OTT.S249425)
29. Nengroo MA, Maheshwari S, Singh A, Verma A, Arya RK, Chaturvedi P, et al. CXCR4 intracellular protein promotes drug resistance and tumorigenic potential by inversely regulating the expression of Death Receptor 5. *Cell Death Dis*. 2021;12(5):464. DOI: [10.1038/s41419-021-03730-8](https://doi.org/10.1038/s41419-021-03730-8)
30. Sison EAR, Magoon D, Li L, Annesley CE, Rau RE, Small D, et al. Plerixafor as a chemosensitizing agent in pediatric acute lymphoblastic leukemia: efficacy and potential mechanisms of resistance to CXCR4 inhibition. *Oncotarget*. 2014;5(19):8947. DOI: [10.18632/oncotarget.2407](https://doi.org/10.18632/oncotarget.2407)