BIRJAND UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES
Journal of Translational Medical Research
https://journal.bums.ac.ir

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

OPEN ACCESS Crossref

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.

[DOI: 10.66224/JBUMS.32.4.285]

مقاله اصیل پژوهشی

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

لمرالدین قیامی[۲،۱]، غلامرضا عنانی سراب[۳]، سید مهدی سجادی[۳]، مریم خدابخشی[۴]، فاطمه بحرینی[۱]، مهتاب صیادی[۳]*

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 هیپرگلایسمیک بر بیان CXCR4 و نقش آن در زنده‌مانی سلولی و مقاومت به متوترکسات درALL طراحی شد.

روش تحقیق: در این مطالعه بنیادی، سلول‌های Nalm-6 به مدت ۱۰ روز در محیط هیپرگلوکز کشت داده شدند تا مدل هیپرگلایسمی 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 کمی‌سازی شدهPCR (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 هیپرگلایسمیک، 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 لفنوبلاستیک 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@tahoo.com

[DOI: 10.66224/JBUMS.32.4.285]

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 PKC، PI3K، 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 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 پروپیدیوم (PI) از شرکت سیگما-آلدریچ (Sigma Aldrich, MO, USA) خریداری شد.

رده سلولی

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

[1] Acute Lymphoblastic Leukemia
[2] Reactive Oxygen Species
[3] Advanced Glycation End products

[DOI: 10.66224/JBUMS.32.4.285]

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

طراحی مطالعه

پس از کشت سلول‌ها در فلاسک T25 در شرایط بهینه ذکرشده و رسیدن به تراکم ۷۰ درصدی، نیمی از سلول‌ها به فلاسک دیگری حاوی محیط هیپرگلوکز منتقل شده و به مدت ۱۰ روز تحت تیمار قرار گرفتند. در واقع، سلول‌ها با توجه به غلظت گلوکز در محیط کشت به دو گروه تقسیم شدند: هیپرگلوکز (۱۰۰ میلی‌مولار) (G) و گلوکز 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 هیپرگلوکز و گلوکز طبیعی، تعداد ۱۵×۱۰^{۳} 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 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای هر چاهک) قرار گرفتند. پس از حل شدن کریستال‌های فورمازان تشکیل‌شده در ۱۰۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفواکسید (DMSO)، جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (Biotech) در طول‌موج‌های ۵۷۰ و ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه زنده‌مانی سلولی هر گروه، آزمایش سه بار تکرار شد و میزان جذب نوری هر گروه با گروه شاهد مقایسه گردید.

آنالیز چرخه سلولی با فلوسیتومتری

تأثیر تیمار بر پیشرفت چرخه سلولی با استفاده از تکنیک فلوسیتومتری ارزیابی شد. تعداد ۳×۱۰^{۵} سلول تیمارشده از هر گروه با اتانول ۷۰٪ در دمای پایین فیکس شدند. پس از حذف اتانول و سوسپانسه‌کردن 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 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و تریتون (۰/۰۵ ٪) و یک بار به مدت دو ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس در تاریکی با رنگ یدید پروپیدیوم (PI) (۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر). فازهای چرخه سلولی در کانال FL2 دستگاه فلوسیتومتر (FACSAria; BD Biosciences) در طول‌موج 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 تیمارشده با استفاده از معرف TRIzol (Invitrogen 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)، پرایمر CXCR4 (Forward: 5′-CATCAGTCTGGACCGCTACC-3′, Reverse: 5′-GGCAGGATAAGGCCAACCAT-3′) و پرایمر GAPDH (Forward: 5′-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 نرم‌افزار آماری GraphPad Prism 8.0 مورد تحلیل قرار گرفت. ارزیابی آماری مقایسه‌ای بین گروه‌ها با استفاده از آزمون

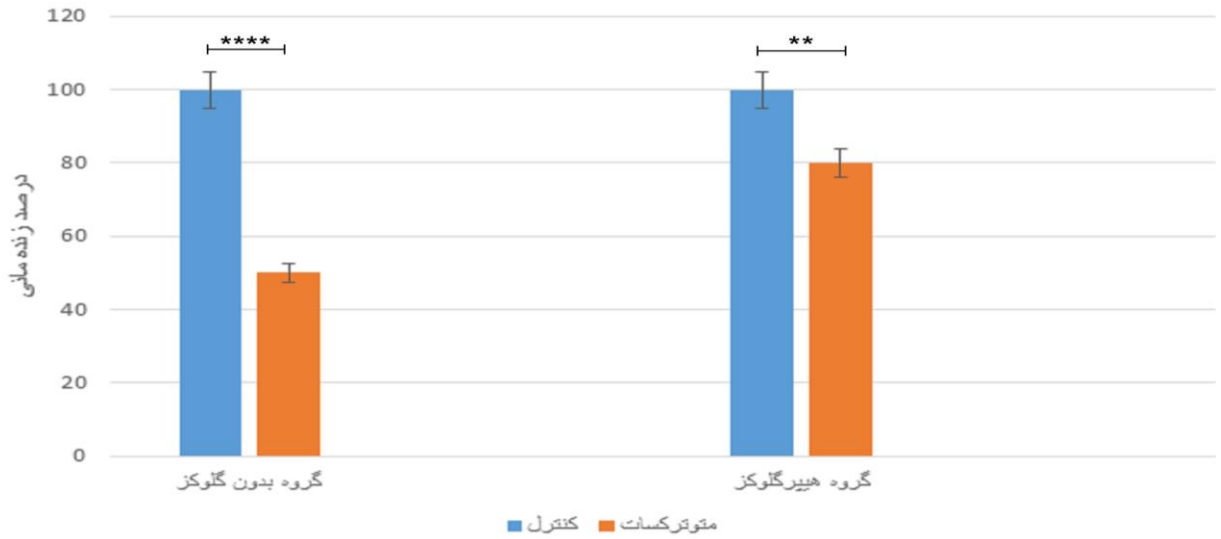
[DOI: 10.66224/JBUMS.32.4.285]

ANOVA یکطرفه انجام شد. آنالیزها در P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شدند. داده‌ها به صورت میانگین±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 NALM-6 با استفاده از آزمون MTT بررسی شد. همان‌طور که در شکل ۱-a نشان داده شده است، غلظتی از متوترکسات که در شرایط گلوکز طبیعی منجر به کاهش زنده‌مانی سلولی تا ٪۴۵ شده بود، در شرایط هیپرگلوکز تأثیر کاملاً متفاوتی داشت (P<۰/۰۰۱). نتایج نشان داد که حضور گلوکز بالا در سلول‌ها، با کاهش حساسیت سلول‌ها به متوترکسات، باعث بقای ٪۸۲ از سلول‌ها در مقایسه با گروه شاهد شد (P=۰/۰۰۸) (شکل ۱-b).



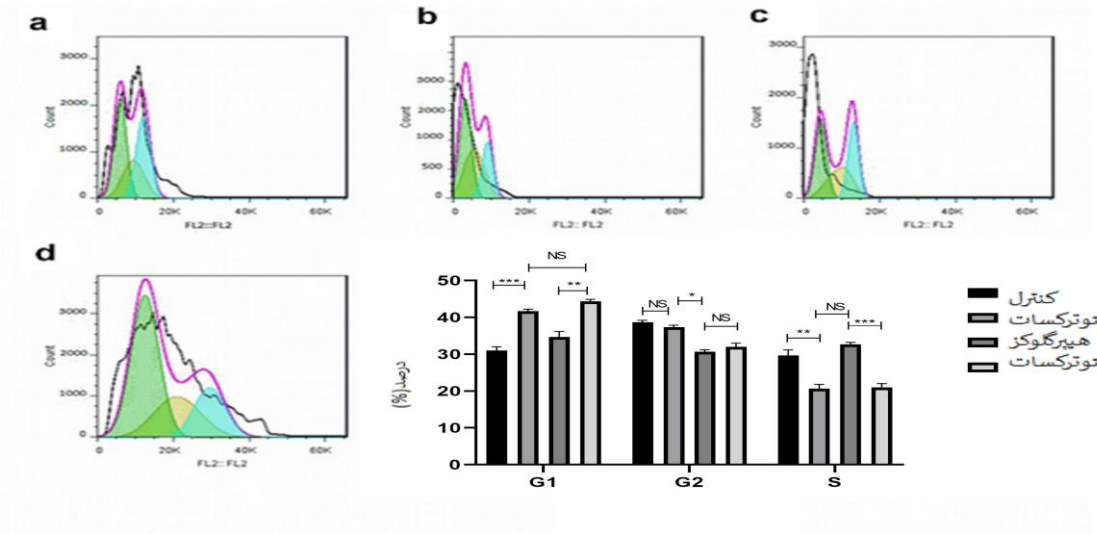
شکل ۱- تأثیر گلوکز بالا و شیمی‌درمانی با متوترکسات بر زنده‌مانی سلول‌های NALM-6. تیمار با متوترکسات در شرایط گلوکز طبیعی(MTX)، در مقایسه با گروه شاهد (control)، تقریباً نیمی از سلول‌ها را از بین برد (a). در حالی که تیمار با متوترکسات در شرایط هایپرگلوکز(MTX+G)، کمتر از نیمی از سلول‌ها را در مقایسه با سلول‌های شاهد هایپرگلوکز (G) از بین می‌برد(b). (n=۳، P<۰/۰۱: **، P<۰/۰۰۰۱: ****)

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(G1, S, 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<۰/۰۰۱)، اما این مقدار از نظر آماری با گروه تیمار شده با گلوکز بالا و متوترکسات تفاوت معنی‌داری نداشت (P=۰/۰۵۷). نسبت سلول‌های در فاز S در گروه تیمار شده با متوترکسات در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت (P=۰/۰۰۳)، اما با گروه تیمار شده با متوترکسات و گلوکز بالا تفاوتی مشاهده نشد (P=۰/۰۵۹). 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=۰/۰۰۵ و P<۰/۰۰۱) اما حضور گلوکز افزایش‌یافته، تأثیری بر اثرات متوترکسات بر تغییر چرخه سلولی نداشت (شکل ۲).

[DOI: 10.66224/JBUMS.32.4.285]

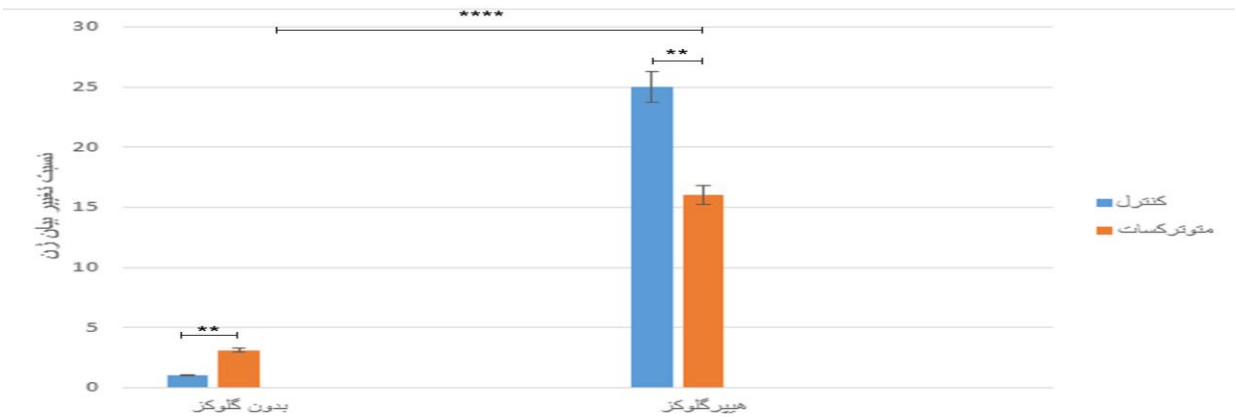


شکل ۲- تأثیر گلوکز بالا و شیمی‌درمانی با متوترکسات بر چرخه سلولی NALM-6. هیستوگرام‌های چرخه سلولی گروه شاهد (A)(control)، گروه متوترکسات (B)(MTX)، گروه هیپرگلوکز (C)(G) و گروه متوترکسات+ هیپرگلوکز (D)(MTX+G). آنالیز آماری هیستوگرام‌ها نشان می‌دهد که اگرچه تیمار با گلوکز بالا باعث توقف چرخه سلولی در فاز S شد، اما تیمار با متوترکسات در شرایط هیپرگلوکز و گلوکز طبیعی، الگویی تکرارپذیر از توقف سلول‌ها در فاز G1 را ایجاد کرد. (NS: غیرمعنادار، P<۰/۰۵: *، P<۰/۰۱: **، P<۰/۰۰۰۱: ***)

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<۰/۰۰۱ و P=۰/۰۶) در واقع، حضور گلوکز 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<۰/۰۰۱) (شکل ۳).



شکل ۳- تأثیر گلوکز بالا و شیمی‌درمانی با متوترکسات بر بیان mRNA ژن CXCR4 در سلول‌های NALM-6. افزایش بیان CXCR4 در سلول‌های تیمارشده با گلوکز بالا نسبت به گروه شاهد (control) و نیز در گروه تیمارشده با متوترکسات و هیپرگلوکز(G+MTX) نسبت به گروه متوترکسات به تنهایی (MTX) مشاهده شد. (n=۳، P<۰/۰۰۰۱: ****).

[DOI: 10.66224/JBUMS.32.4.285]

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 ایمونولوژیک 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 بی هوازی 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). به طور 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 زنوگرافت 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-βII 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،

[DOI: 10.66224/JBUMS.32.4.285]

طحال و کبد مسدود شده و طول عمر موش‌های 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 سلول‌های سرطانی R/R ALL را به شیمی‌درمانی حساس کرده و مقاومت شیمیایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی را معکوس کند (۲۸). Nengroo و همکاران نشان دادند که CXCR4 درون‌سلولی با مهار ترجمه DR5، باعث تحریک زنده‌مانی سلول‌های سرطانی، مهار آپوپتوز و تحمل شیمی‌درمانی می‌شود (۲۹). سیسون و همکاران ثابت کردند که تجویز همزمان Plerixafor (مهارکننده CXCR4) و شیمی‌درمانی در مدل‌های زنوگرافت ALL کودکان، منجر به بار لوسمی به طور قابل توجهی پایین‌تر در مقایسه با شیمی‌درمانی به تنهایی می‌شود (۳۰). با توجه به یافته‌ها و نمونه‌های ذکر شده، CXCR4 نقش مهمی در تحمل شیمی‌درمانی توسط سلول‌های سرطانی ایفا می‌کند، اما برای تأیید اثرات گلوکز بالا در شیمی‌درمانی با متوترکسات، انجام پژوهش‌های بیشتر بر روی مدل‌های حیوانی لوسمی ضروری است.

نتیجه‌گیری

شیمی‌درمانی با متوترکسات در شرایط هیپرگلوکز، باعث افزایش زنده‌مانی سلولی و بیان ژن CXCR4 در سلول‌های NALM-6 شد که نشان‌دهنده نقش احتمالی گلوکز بالا در ایجاد مقاومت شیمی‌درمانی در بیماران لوسمی است. چرخه سلولی حتی در شرایط هیپرگلوکز نیز الگوی قابل پیش‌بینی در پاسخ به متوترکسات را دنبال می‌کند و به‌نظر می‌رسد مقاومت به متوترکسات تأثیر معناداری بر تغییرات چرخه سلولی نداشته باشد.

تقدیر و تشکّر

این مقاله حاصل پایان‌نامه 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 می‌باشد 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 پایان‌نامه 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 می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

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
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

[DOI: 10.66224/JBUMS.32.4.285]

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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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

[DOI: 10.66224/JBUMS.32.4.285]

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

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

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

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

25. Yamamoto M, Acevedo-Duncan M, Chalfant CE, Patel NA, Watson JE, Cooper DR. Acute glucose-induced downregulation of PKC-βII accelerates cultured VSMC proliferation. Am J Physiol Cell Physiol. 2000;279(3):C587-C95. DOI: 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

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

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

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

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

[DOI: 10.66224/JBUMS.32.4.285]