مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد۹، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۷

بررسی مقاومت دارویی به دوکسوروبیسین در رده سلولی سرطان پستان MCF-7 در نتیجه‌ی تیمار با انسولین

پریسا خردمند .Ph.D. Candidate[1]، صادق ولیان بروجنی .Ph.D[1*]، سعید اسماعیلی ماهانی .Ph.D[2]

۱- دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، بخش ژنتیک، اصفهان، ایران
۲- دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، کرمان، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: svallian@sci.ui.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۵

چکیده

هدف: در مطالعه حاضر هدف بررسی اثر انسولین در القای مقاومت دارویی به دوکسوروبیسین در رده‌ی سلولی سرطان پستان MCF-7 می‌باشد.

مواد و روش‌ها: سلول‌های MCF-7 با ۱۰نانومولار انسولین به مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند و سپس چاهک‌های حاوی سلول‌های این گروه با دوزهای متفاوت دوکسوروبیسین (۱، ۵ و ۱۰ میکرومولار) به مدت ۲۴ ساعت دیگر در انکوباتور نگه داشته شدند و در ادامه میزان بقای سلولی با استفاده از تست سنجش MTT بررسی شد.

نتایج: دوکسوروبیسین اثرات ضد توموری با کاهش بقای سلولی به صورت وابسته به مقدار دارو نشان داد. این درحالی است که افزودن ۱۰ میکرومولار دوکسوروبیسین، در سلول‌های تیمار شده با انسولین به مدت ۷۲ ساعت، مقاومت دارویی چشمگیری را القا نمود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که انسولین، به‌طور معنی‌داری در شرایط وابسته به زمان باعث القای مقاومت به داروی دوکسوروبیسین در رده سلولی MCF-7 می‌شود.

واژگان کلیدی: انسولین، دوکسوروبیسین، سلول‌های MCF-7، مقاومت دارویی

مقدمه

سرطان نام کلی برای مجموعه‌ای از بیماری‌ها است که همراه با رشد و تکثیر کنترل نشده‌ی سلول‌ها می‌باشد. تکثیر سلول‌های بدن در حالت طبیعی تحت کنترل بسیار دقیق مکانیسم‌های مرتبط با چرخه‌ی سلولی است و به وجود آمدن اختلال در این چرخه سبب خارج شدن این مکانیسم‌ها از مسیر طبیعی خود می‌شود (۱). سلول‌های سرطانی از لحاظ ژنتیکی توانایی رشد ناهنجار را کسب کرده و می‌توانند به بافت‌های سالم مجاور دست‌اندازی کنند و طی فرایند متاستاز از طریق خون یا لنف به سایر نقاط بدن انتشار یابند.

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در میان کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه است. براساس آمار منتشر شده در سال ۲۰۱۸، شایع‌ترین سرطان‌ها در بین زنان آمریکا به ترتیب: سرطان پستان، ریه و کولورکتوم می‌باشند که در مجموع نیمی از سرطان‌های زنان را شامل می‌شوند. سرطان پستان با حدود ۲۷/۴ درصد کل موارد ابتلا به سرطان، شایع‌ترین سرطان درمیان زنان ایرانی است. این در حالی است که بررسی‌ها نشان‌دهنده‌ی پایین‌تر بودن نرخ ابتلا و میانگین سن ابتلا (۴۹/۶) به این سرطان در ایران در مقایسه با کشورهای همسایه مانند عراق است (۲). در سال‌های اخیر مطالعات آماری گویای افزایش نسبتاً سریع میزان بروز این بیماری در ایران می‌باشد به‌طوری‌که نرخ این بیماری از حدود ۲۳/۱ مورد از هر صد هزار نفر در سال ۲۰۰۵ به حدود ۲۷/۴ مورد از هر صد هزار نفر در سال ۲۰۱۰ رسیده و میزان مرگ و میر ناشی از این سرطان از میزان ۱/۹۷ مورد از هر صد هزار نفر به ۲/۴۵ مورد از هر صد هزار نفر رسیده است که این موضوع خود سبب افزایش نگرانی‌ها در این‌باره شده است (۳).

اخیرا بررسی‌ها در زمینه‌ی عوامل ژنتیکی و محیطی مرتبط با سرطان پستان، برهمکنش این دو عامل را ثابت کرده است، به‌طوری‌که مشخص شده که خطر ابتلا به سرطان پستان در ارتباط با برخی عوامل ژنتیکی، می‌تواند به‌طور چشمگیری تحت تاثیر عوامل محیطی تغییرکند (۴).

روش‌های درمانی متفاوتی برای درمان سرطان پستان وجود دارد. عمل جراحی، رادیوتراپی و شیمی درمانی از جمله درمان‌های استاندارد مورد استفاده در سرطان پستان هستند. شیمی درمانی یک شیوه رایج در معالجه سرطان‌ها است که با هدف نابود سازی سلول‌های سرطانی انجام می‌شود. امروزه بیش از ۵۰ نوع داروی شیمی درمانی به‌طور گسترده در درمان انواع سرطان به‌کار می‌رود. این داروها می‌توانند پروتئین‌ها، RNA و DNA را مورد هدف قرار دهند.

دوکسوروبیسین از جمله داروهای شیمی درمانی است که متعلق به خانواده آنتراسیکلین‌ها است. آنتراسیکلین‌ها جز آنتی بیوتیک‌ها می‌باشند که یکی از موثرترین و وسیع‌ترین داروهای سیتوتوکسیک در درمان تومورها هستند. نام تجاری این دارو آدریامایسین (ADR) است و در درمان انواع وسیعی از سرطان‌ها ازجمله، سرطان پستان، ریه، معده، تیروئید، تخمدان و ... استفاده می‌شود و به‌دلیل ساختار شیمیایی که دارد، خاصیت چربی دوستی بالایی داشته و دارای نیمه عمر طولانی در بدن است (۵, ۶).

بسیاری از سرطان‌ها در طی درمان با داروهای شیمی درمانی نسبت به اثرات درمانی داروی مصرفی، مقاوم می‌شوند. تومورها ممکن است به‌طور ذاتی و قبل از شیمی درمانی به داروها مقاوم باشند یا در طول درمان با داروها این مقاومت را کسب کنند. علاوه بر این، در فرآیند کسب مقاومت، تومور ممکن است به طیف وسیعی از درمان‌ها مقاومت نشان دهد که همین عامل در نهایت منجر به شکست درمان بیش از ۹۰ درصد بیماران سرطانی در مرحله متاستاز می‌شود (۷). به‌نظر می‌رسد که تغییرات

ژنتیکی تومور و نیز متفاوت بودن ساختار ژنتیکی بیماران، تغییرات اپی‌ژنتیکی و عوامل محیطی تومور، همگی در مکانیسم پیچیده‌ی مقاومت به داروی سرطانی نقش دارند (۸, ۹). از آن‌جایی‌که بافت سرطانی اجتماعی از سلول‌های مختلف می‌باشد، معمولا در یک بافت سرطانی شیمی درمانی شده، بیش از یک مکانیسم در مقاومت دارویی موثر می‌باشد. این مکانیسم‌ها به‌صورت مجزا از یکدیگر و یا به‌صورت هم‌افزایی منجر به مقاومت دارویی می‌شوند که در آن سلول به انواع داروهایی که از نظر ساختار و مکانیسم متفاوت از یکدیگرند، مقاوم می‌شود و درنتیجه مقاومت به چندین دارو حاصل می‌شود (۸-۱۱).

تحقیقات نشان داده‌اند که انسولین مسیر PI3K / Akt را فعال می‌کند و از این طریق باعث افزایش سرطان‌زایی می‌شود (۱۲-۱۴). علاوه بر جهش‌های ژنی در اجزای اصلی این مسیر، محرک‌های خارج سلولی مانند انسولین و فاکتور رشد شبه انسولینی ۱، سیگنال PI3K / Akt را افزایش می‌دهند و باعث مقاومت به داروهای ضد سرطان می‌شوند (۱۵ و ۱۶). در حقیقت، در بسیاری از انواع سرطان‌ها، انسولین باعث مقاومت در برابر داروهای شیمی درمانی می‌شود و حتی ممکن است با تشخیص دیررس، به‌خصوص در بیماران مبتلا به چاقی و دیابت نوع ۲ مرتبط باشد. علاوه بر این، مطالعات مختلف نشان داده‌اند که گیرنده‌های انسولین در سرطان‌های مختلف افزایش بیان داشته‌اند(۱۷, ۱۸). بااین‌حال، مکانیسم دقیق مقاومت دارویی ناشی از انسولین هنوز مشخص نشده است. در این پژوهش به بررسی اثر انسولین در القای مقاومت دارویی به دوکسوروبیسین در رده‌ی سلولی سرطان پستان MCF-7 پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

رده سلولی: در این مطالعه رده سلولی MCF-7 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران با کد C135 (NCBIcode: C135) تهیه شد. سلول‌ها در محیط DMEM با گلوکز ۲۵ میلی‌مولار همراه با ۱۰درصد سرم جنینی گاو (FBS)، پنی‌سیلین (۱۰۰U/ml) و استرپتومایسین (۱۰۰میکروگرم در میلی‌لیتر) کشت داده شدند. سلول‌ها در انکوباتور، با ۵ درصد CO_2، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۹۷ درصد نگه‌داری شدند.

بررسی رشد سلولی: سنجش بقای سلولی در این پژوهش با استفاده از روش MTT (دی متیل تیازول- دی فنیل تترازولیوم بروماید) انجام شد. MTT ترکیب زرد رنگی می‌باشد که پس از ورود به میتوکندری سلول‌های زنده توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز احیا شده و به ماده‌ای ارغوانی رنگ به نام فورمازان تبدیل می‌شود. بنابراین در مواردی که سلول‌های زنده بیشتر باشند، در اثر فعالیت بیشتر آنزیم، تبدیل MTT به فورمازان بیشتر و در نتیجه رنگ ارغوانی بیشتری تولید می‌گردد. به عبارت دیگر وجود رنگ ارغوانی بیشتر، بیانگر میزان سلول زنده بیشتر می‌باشد. مراحل انجام آزمایش به صورت زیر می‌باشد:

مجاورت سلول‌ها با داروی دوکسوروبیسین: پس از شمارش سلول‌ها به‌وسیله لام نئوبار، تعداد ۵۰۰۰ سلول در چاهک‌های پلیت ۹۶ چاهکی ریخته شد. پلیت حاوی سلول‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگه داشته شد تا سلول‌ها به کف آن بچسبند. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، گروه‌های مختلف سلولی (کنترل و تیمار با داروی انسولین) با داروی دوکسوروبیسن و محیط DMEM کامل، تیمار شدند. پلیت حاوی سلول‌ها به انکوباتور برگردانده شد و به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. ابتدا استوک MTT شرکت سیگما معادل ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شد و سپس ۲۰ میکرولیتر در هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتری ریخته شد. بعد از اضافه کردن MTT پلیت حاوی سلول‌ها به‌مدت ۲ ساعت در انکوباتور نگه داشته شد. تمامی مایع موجود در چاهک‌ها تخلیه شد و

به هرکدام از چاهک‌ها ۷۰-۸۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد (DMSO با نفوذپذیر کردن غشای سلولی و انحلال فورمازان در خود باعث می‌شود رنگ ارغوانی آن در محیط چاهک‌ها پخش گردد). پلیت چند بار به‌آرامی تکان داده شد تا رنگ ارغوانی کاملا در محیط چاهک پخش شود. جذب نوری رنگ ارغوانی چاهک‌ها به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اتوماتیک (الایزا ریدر) مدل FLX8000 برند Biotek در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت داده‌های خروجی از دستگاه برای آنالیز با برنامه اکسل بررسی شد. گروه‌های مورد آزمایش در تست MTT شامل: گروه تیمار نشده و گروه تیمار بود.

در گروه تیمار نشده، تیمار با انسولین صورت نگرفته و شامل گروه کنترل که تنها با ۲۰۰ میکرولیتر محیط DMEM کامل (با غلظت ۲۵ میلی‌مول گلوکز) پر شدند و سپس سه گروه از سلول‌های MCF-7 که در معرض دوزهای متفاوت دوکسوروبیسین (۱، ۵ و ۱۰ میکرومولار) قرار گرفتند. در هر پلیت ۹۶ چاهک، یک گروه ۵ تایی کنترل در نظر گرفته شد.

در گروه تیمار، سلول‌ها با انسولین (۱۰ نانومولار) به‌مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند و شامل گروه کنترل که با ۲۰۰ میکرولیتر محیط DMEM کامل (با غلظت ۲۵ میلی‌مول گلوکز) پر شدند و با انسولین تیمار شدند و سپس سه گروه از سلول‌های MCF-7 که پس از تیمار با انسولین به‌مدت ۲۴ ساعت در معرض دوزهای متفاوت دوکسوروبیسین (۱، ۵ و ۱۰ میکرومولار) قرار گرفتند تا بدین وسیله اثر انسولین بر مقاومت دارویی سلول‌ها مشخص شود.

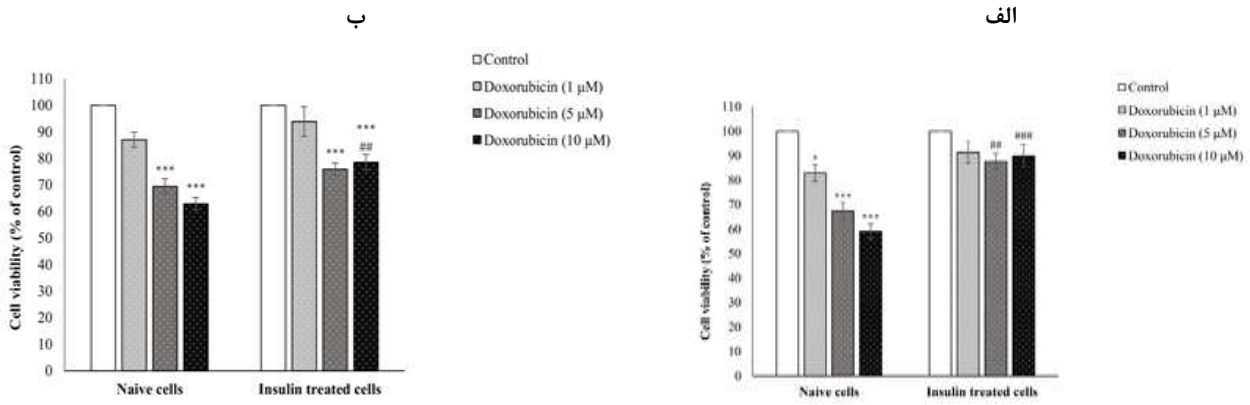
آنالیز آماری

داده های حاصل از نتایج به کمک نرم افزار SPSS20 تحلیل و به صورت میانگین ±خطای استاندارد بیان شده‌اند. اختلاف بین میانگین داده‌های آزمون MTT در گروه‌های مورد مطالعه با کمک آزمون یک‌طرفه ANOVA برآورد شد.

نتایج

در این مطالعه به‌منظور بررسی اثرات ضدتوموری داروی دوکسوروبیسین بر روی سلول‌های سرطان پستان، سلول‌های MCF-7 تحت تیمار با غلظت‌های متفاوت داروی دوکسوروبیسین قرار گرفتند و بقای آن‌ها با استفاده از تست MTT بررسی شد. پس از ریختن سلول‌ها به داخل پلیت ۹۶ چاهک، ۲۴ ساعت جهت شروع دوره رشد و چسبیدن به کف چاهک‌ها فرصت داده شد، سپس سلول‌ها در معرض غلظت‌های ۱ تا ۱۰ میکرومولار داروی دوکسوروبیسین قرار گرفتند. شکل۱ نشان می‌دهد که دارو با توجه به دوز مورد استفاده دارای اثرات سمیت سلولی بوده و بقای سلولی را کاهش می‌دهد. در غلظت ۱ میکرومولار اثر سمی قابل توجه‌ای از خود نشان نمی‌دهد. غلظت ۵ و ۱۰ میکرومولار اثر کشندگی سلولی قابل توجه‌ای ($p<۰/۰۰۱$) را اعمال کردند (شکل ۱).

در ادامه به‌منظور بررسی اثرات تیمار با انسولین بر روی مرگ سلولی القا شده توسط دوکسوروبیسین، گروه‌های مجزایی از سلول‌ها با ۱۰nM انسولین به‌مدت ۴۸ ساعت (شکل1A) و ۷۲ ساعت (شکل 1B) تیمار شدند و سپس آن‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در معرض غلظت‌های ۱ تا ۱۰ میکرومولار داروی دوکسوروبیسین قرار گرفتند. نتایج نشان می‌دهد که داروی دوکسوروبیسین با توجه به دوز مورد استفاده دارای اثرات سمیت سلولی در سلول‌های تیمار نشده بوده و باعث مرگ سلولی شده است اما در سلول‌های تیمار شده، بقای سلولی به‌دلیل تیمار انجام شده با انسولین کاهش نمی‌یابد و القای مقاومت در برابر داروی دوکسوروبیسین در شرایط وابسته به زمان دیده می‌شود.



شکل ۱: الف) اثر غلظت‌های متفاوت دوکسوروبیسین بر بقای سلول‌های MCF-7 تیمار نشده و سلول‌های MCF-7 تیمار شده با انسولین به‌مدت ۴۸ ساعت، با استفاده از تست MTT. نتایج بصورت میانگین ±خطای استاندارد نشان داده شده‌اند. p^{*}<۰/۰۵ و p^{***} < ۰/۰۰۱ ، اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، $p^{##}$ ۰/۰۱ > و $p^{###}$ < ۰/۰۰۱ ، اختلاف معنی‌دار نسبت به سلول‌های MCF-7 تیمار نشده در دوز یکسان دوکسوروبیسین، ب)اثر غلظت‌های متفاوت دوکسوروبیسین بر بقای سلول‌های MCF-7 تیمار نشده و سلول‌های MCF-7 تیمار شده با انسولین به‌مدت ۷۲ ساعت، با استفاده از تست MTT. نتایج به‌صورت میانگین ±خطای استاندارد نشان داده شده‌اند. p^{***} < ۰/۰۰۱، اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، $p^{##}$ < ۰/۰۱، اختلاف معنی‌دار نسبت به سلول‌های MCF-7 تیمار نشده، در دوز ۱۰ میکرومولار دوکسوروبیسین را نشان می‌دهد.

بحث

سرطان پستان یکی از معمول‌ترین بدخیمی‌ها در میان زنان و دومین علت مرگ ناشی از سرطان می‌باشد. روش‌های درمانی متفاوتی برای درمان سرطان پستان وجود دارد. عمل جراحی، رادیو درمانی و شیمی درمانی از جمله درمان‌های استاندارد مورد استفاده در سرطان پستان هستند. اغلب ترکیبی از چند روش درمانی گوناگون برای درمان یک بیمار مورد استفاده قرار می‌گیرد. از این بین شیمی درمانی یکی از موثرترین درمان‌ها برای تومورهای متاستاتیک به‌شمار می‌رود. این درحالی است که مقاوم شدن هم‌زمان سلول‌های سرطانی نسبت به داروهای مختلف، بدون ارتباط ساختاری و عملکردی با یکدیگر هنوز یکی از موانع بزرگ بر سر راه شیمی‌درمانی موفق به‌شمار می‌آید (۱۹).

در سال‌های اخیر مطالعات متعدد ارتباط بین مسیر پیام رسانی انسولین و EMT، متاستاز و مقاومت دارویی، را نشان داده‌اند (۱). مسیر پیام رسانی انسولین به‌دلیل ارتباط با شبکه‌ای از مسیرهای پیام رسانی، مسیری بسیار پیچیده است. تحقیقات نشان داده‌اند که انسولین با فعال کردن مسیر PI3K/Akt باعث افزایش سرطان‌زایی می‌شود. از سوی دیگر، پیام رسانی انسولین همچنین باعث تکثیر و تمایز سلولی از طریق مسیر Ras/MAPK می‌شود (۲۰, ۲۱). بررسی‌ها نشان داده است که محرک‌های خارج سلولی مانند انسولین و فاکتور رشد شبه انسولینی ۱، پیام PI3K / Akt را افزایش می‌دهد و باعث مقاومت دارویی می‌شود (۱۵). Bowker و همکاران (۲۲) نشان دادند که ارتباط معنی‌داری بین مرگ و میر مرتبط با سرطان و استفاده از انسولین وجود دارد. علاوه بر این، Ulanet و همکاران (۱۸) نشان دادند که افزایش میزان گیرنده انسولین می‌تواند سبب افزایش پیشرفت تومور و باعث ایجاد مقاومت ذاتی در برابر درمان هدفمند IGF-1R شود. همچنین، مطالعات مختلف افزایش بیان گیرنده‌های انسولینی را در سرطان‌ها، نشان داده‌اند (۱۷).

Gooch و همکاران (۲۳) نشان دادند که انسولین و IGF-1 در سرطان پستان عمل ضد آپوپتوزیس داشته و باعث مهار اثر شیمی درمانی و آپوپتوز در سلول های سرطانی می‌شود. همچنین Khandwala و همکاران

(۲۴) نشان دادند که انسولین و IGF-1 باعث تومور زایی و نئوبلاست می‌شود.

Warshamana-Greene و همکاران (۲۵) نشان دادند که IGF-1 و انسولین یک عامل رشد و افزایش مقاومت سلول‌های سرطان ریه می‌باشد که از طریق مسیرهای پیام رسانی باعث کاهش اثر داروی ضد سرطان دوکسوروبیسین می‌شود.

Lu و همکاران (۲۶) با تحقیق بر روی داروی هرسپتین که مشابه دوکسوروبیسین است و تیمار سلول‌های MCF-7 با هرسپتین و انسولین نشان دادند که میزان مرگ سلولی در طی شیمی درمانی به نسبت معنی‌داری کاهش می‌یابد و سلول‌های تیمار شده با انسولین نسبت به هرسپتین مقاوم می‌شوند.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه با استفاده از آزمون MTT، نشان داده شد که دوکسوروبیسین باعث کاهش بقای سلول‌های MCF-7 تیمار نشده می‌شود. از سوی دیگر، تیمار با انسولین قبل از انکوباسیون با دوکسوروبیسین، می‌تواند بقای این سلول‌هارا در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده افزایش دهد و از این رو سبب ایجاد مقاومت در برابر دوکسوروبیسین شود. مطالعات مختلف نشان داده است که افزایش فعالیت مسیر PI3K/Akt، با پیشرفت سرطان، تهاجم، EMT و مقاومت در برابر داروهای ضد سرطان در ارتباط است. با این‌حال انجام تحقیقات بیشتر و بررسی بیان ژن‌های موثر در مسیر پیام رسانی انسولین مورد نیاز است و می‌تواند در نتیجه‌گیری بهتر کمک کننده باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه توسط گروه تحقیقاتی دانشگاه اصفهان و مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان پشتیبانی شد. نویسندگان تحقیق حاضر از پشتیبانی مالی و مشاوره پروفسور شهریار دبیری کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

1. Otto T, Sicinski P. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. Nature Reviews Cancer. 2017; 17(2): 93-115.
2. Jazayeri SB, Saadat S, Ramezani R, Kaviani A. Incidence of primary breast cancer in Iran: Ten-year national cancer registry data report. Cancer epidemiology. 2015; 39(4): 519-27.
3. Enayatrad M, Amoori N, Salehiniya H. Epidemiology and trends in breast cancer mortality in Iran. Iranian journal of public health. 2015; 44(3): 430-431.
4. Nickels S, Truong T, Hein R, Stevens K, et al. Evidence of gene–environment interactions between common breast cancer susceptibility loci and established environmental risk factors. PLoS genetics. 2013; 9(3): e1003284.
5. Frederick CA, Williams LD, Ughetto G, Van der Marel GA, et al. Structural comparison of anticancer drug-DNA complexes: adriamycin and daunomycin. Biochemistry. 1990; 29(10): 2538-49.
6. Thorn CF, Oshiro C, Marsh S, Hernandez-Boussard T, et al. Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. Pharmacogenetics and genomics. 2011; 21(7): 440.
7. Wilson T, Longley D, Johnston P. Chemoresistance in solid tumours. Annals of Oncology. 2006; 17(10): x315-x24.
8. Salgia R, Kulkarni P. The Genetic/Non-genetic Duality of Drug 'Resistance'in Cancer. Trends in cancer. 2018; 4(2): 110-118.
9. Sun X-x, Yu Q. Intra-tumor heterogeneity of cancer cells and its implications for cancer treatment. Acta Pharmacologica Sinica. 2015; 36(10): 1219-27.
10. Zañudo JGT, Scaltriti M, Albert R. A network modeling approach to elucidate drug resistance mechanisms and predict combinatorial drug treatments in breast cancer. Cancer convergence. 2017; 1(1): 5.
11. Mansoori B, Mohammadi A, Davudian S, Shirjang S, et al. The different mechanisms of cancer drug resistance: A

brief review. Advanced pharmaceutical bulletin. 2017; 7(3): 339-348.
12. Fruman DA, Chiu H, Hopkins BD, Bagrodia S, et al. The PI3K pathway in human disease. Cell. 2017; 170(4): 605-35.
13. Pollak M. The insulin and insulin-like growth factor receptor family in neoplasia: an update. Nature Reviews Cancer. 2012; 12(3): 159-69.
14. Nepstad I, Reikvam H, Brenner AK, Bruserud Ø, et al. Resistance to the Antiproliferative In Vitro Effect of PI3K-Akt-mTOR Inhibition in Primary Human Acute Myeloid Leukemia Cells Is Associated with Altered Cell Metabolism. International journal of molecular sciences. 2018; 19(2): E382.
15. Li H, Batth IS, Qu X, Xu L, et al. IGF-IR signaling in epithelial to mesenchymal transition and targeting IGF-IR therapy: overview and new insights. Molecular cancer. 2017; 16(1): 6.
16. Qin H, Liu L, Sun S, Zhang D, et al. The impact of PI3K inhibitors on breast cancer cell and its tumor microenvironment. PeerJ. 2018; 6: e5092.
17. Forest A, Amatulli M, Ludwig DL, Damoci CB, et al. Intrinsic resistance to cixutumumab is conferred by distinct isoforms of the insulin receptor. Molecular Cancer Research. 2015; 13(12): 1615-1626.
18. Ulanet DB, Ludwig DL, Kahn CR, Hanahan D. Insulin receptor functionally enhances multistage tumor progression and conveys intrinsic resistance to IGF-1R targeted therapy. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010; 107(24): 10791-8.
19. Fatemi F DA, Honardoost M, Ebrahimi M, Hedayati M, et al. Mechanism of drug resistance in cancer. Research in Medicine. 2007; 1:7.
20. Bevan P. Insulin signalling. Journal of cell science. 2001; 114(8): 1429-30.
21. Boucher J, Kleinridders A, Kahn CR. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. Cold Spring Harbor perspectives in biology. 2014; 6(1): a009191.
22. Bowker SL, Majumdar SR, Veugelers P, Johnson JA. Increased cancer-related mortality for patients with type 2 diabetes who use sulfonylureas or insulin. Diabetes care. 2006; 29(2): 254-8.
23. Gooch JL, Van Den Berg CL, Yee D. Insulin-like growth factor (IGF)-I rescues breast cancer cells from chemotherapy-induced cell death–proliferative and anti-apoptotic effects. Breast cancer research and treatment. 1999; 56(1): 1-10.
24. Khandwala HM, McCutcheon IE, Flyvbjerg A, Friend KE. The effects of insulin-like growth factors on tumorigenesis and neoplastic growth. Endocrine reviews. 2000; 21(3): 215-44.
25. Warshamana-Greene GS, Litz J, Buchdunger E, García-Echeverría C, et al. The insulin-like growth factor-I receptor kinase inhibitor, NVP-ADW742, sensitizes small cell lung cancer cell lines to the effects of chemotherapy. Clinical Cancer Research. 2005; 11(4): 1563-71.
26. Lu Y, Zi X, Zhao Y, Mascarenhas D, et al. Insulin-like growth factor-I receptor signaling and resistance to trastuzumab (Herceptin). Journal of the National Cancer Institute. 2001; 93(24): 1852-7.

Journal of Cell & Tissue (JCT) *Original Article*
Spring 2019; 9(4)

Evaluation of drug resistance to doxorubicin in MCF-7 breast cancer cell line as a result of insulin treatment

Kheradmand P, Ph.D. Candidate [1], Vallian Boroujeni S, Ph.D.[1*], Esmaeili Mahani S, Ph.D [2]

1. Department of Biology, Faculty of Science, Isfahan University, Isfahan, Iran
2. Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar KermanUniversity, Kerman, Iran.

* Email corresponding author: svallian@sci.ui.ac.ir

Received:18 Dec. 2018 Accepted: 24 Feb.2019

Abstract

Aim: In this study, the effect of insulin was investigated in induction of drug resistance to doxorubicin in MCF-7 breast cancer cell line.

Material and method: MCF-7 cells were pretreated with 10 nM insulin for 48 and 72 hours, respectively. Then, different doses of doxorubicin (1, 5 and 10 μM) were added for an additional 24 hours and cell viability was determined by MTT assay.

Results: Doxorubicin had antitumor effects by reducing the cell survival in a dose-dependent manner. However, the addition of 10 μM doxorubicin in the insulin-treated cells for 72 hours induced significant drug resistance ($p<0.01$).

Conclusion: The results revealed that insulin could significantly cause the doxorubicin resistance in a time-dependent manner in MCF-7 cells.

Keywords: Insulin, Doxorubicin, MCF-7 cells, Drug Resistance