

## بررسی آزمایشگاهی اثر سمیت سلولی داروهای مهارکننده آنزیم سیکلواکسیژناز (COX1, COX2) بر روی رده سلول KB

دکتر مریم السادات هاشمی پور<sup>۱</sup> - هدی مهرابی زاده هنرمند<sup>۲</sup> - فریده فلسفی<sup>۳</sup> - سعید رجبعلیان<sup>۴</sup> - رفعت حسینی<sup>۴</sup>

۱- استادیار گروه آموزشی بیماریهای دهان و تشخیص دانشکده دندانپزشکی و مراکز تحقیقاتی علوم و اعصاب و بیماریهای دهان و دندان

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۲- دانشجوی دندانپزشکی

۳- کارشناس ارشد بیولوژی مولکولی و سلولی و عضو مرکز تحقیقات علوم و اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۴- کارشناس میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

### چکیده

**زمینه و هدف:** از جمله داروهایی که اخیراً مطالعاتی در زمینه تأثیر آنها بر روی انواع سرطان انجام گرفته داروهای بازدارنده سیکلواکسیژنازها هستند. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر سمیت سلولی داروهای سیکلواکسیژناز بر روی سلول KB (اسکواموس سل کارسینومای دهان) در محیط آزمایشگاهی می باشد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی پودر داروهای بروفن، ایندومتاسین، پیروکسیکام، سلکوکسیب، مفنامیک اسید، استامینوفن، آسپرین، ناپروکسن و دیکلوفناک سدیم از شرکت سیگما تهیه و مقدار مناسبی از آن در حلال مناسب طبق دستور کارخانه سازنده حل شد. پرولیفراسیون سلول KB در این مطالعه با استفاده از روش *MTT-assay* انجام گرفت. غلظتی از داروها که ۵۰٪ رشد سلول را نسبت به کنترل متوقف می کند ( $IC_{50}$ ) محاسبه و گزارش گردید. سرانجام داده های این مطالعه با استفاده از آزمونهای آماری (*post hoc*) مقایسه غلظتهای مختلف داروهای مورد استفاده بر روی میزان زنده ماندن سلولها و آزمون واریانس (مقایسه میانگین  $IC_{50}$  داروها با یکدیگر) و برنامه آماری SPSS ویرایش ۱۳/۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

**یافته ها:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که داروهای سلکوکسیب، دیکلوفناک سدیم و مفنامیک اسید دارای اثر بازدارندگی مناسبی بر روی سلول KB می باشد. ارزش  $IC_{50}$  در این داروها به ترتیب ۱/۵، ۴/۵ و ۱۵/۴ میکروگرم در میلی لیتر گزارش گردید. همچنین داروهای ایندومتاسین، آسپرین و ناپروکسن با میانگین  $IC_{50}$ ، پنجاه میکروگرم در میلی لیتر رشد سلولی را متوقف کردند. نتیجه گیری: داروی سلکوکسیب و دیکلوفناک سدیم دارای اثر کشندگی سلولی می باشد. بنابراین می توانند به عنوان یک داروی ضد سرطان دهان در مرحله آزمایشگاهی مطرح باشد.

**کلیدواژه ها:** سمیت سلولی - دارو - سیکلواکسیژناز - سلول KB.

پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۵/۲۹

اصلاح نهایی: ۱۳۸۸/۴/۹

وصول مقاله: ۱۳۸۷/۷/۱۶

**نویسنده مسئول:** دکتر مریم السادات هاشمی پور، گروه آموزشی بیماریهای دهان و تشخیص دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان  
e.mail:m\_s\_hashemipour@yahoo.com

### مقدمه

بزرگسالان بالای چهل سال شایعتر است ولی شیوع آن در بین جوانانی که از تنباکوی جویدنی استفاده می کنند در حال افزایش می باشد. عوامل اساسی در ایجاد این سرطان سیگار و نوشیدن الکل است. درمان سرطانهای دهان شامل جراحی، پرتو درمانی و شیمی درمانی می باشد، این سرطان به درمان مقاوم بوده و در نتیجه درمان آن با موفقیت چندان

سرطان دهان ششمین سرطان شایع در دنیا می باشد، که نزدیک به ۵٪ از تمام بدخیمها در مردان و ۲٪ در زنان را شامل می شود. این بدخیمی جز ده علت اول مرگ و میر محسوب می شود. تقریباً سی هزار نفر در آمریکا و دو هزار نفر در انگلیس سالیانه دچار این سرطان می شوند. معمولاً در

و مغز و ... بروز کرده و موجب پیشرفت ضایعه می‌شود. (۱۳-۱۴)

لذا با توجه به اهمیت سرطان دهان و شیوع آن در بین جوامع مختلف و اینکه تاکنون مطالعه چندانی در زمینه تأثیر داروهای مهارکننده آنزیم سیکلواکسیژناز بر روی این بدخیمی انجام نشده، هدف از این مطالعه تعیین اثر سمیت سلولی داروهای مهارکننده آنزیم سیکلواکسیژناز (COX1, COX2) بر روی رده سلول KB (سرطان سلول سنگفرشی دهان) در محیط آزمایشگاهی می‌باشد.

### روش بررسی

در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی بررسی پودر خالص داروهای مفنامیک اسید، سلوکسیست، دیکلوفناک سدیم، استامینوفن، ایندومتاسن، ایبوپروفن، ناپروکسن، پیروکسیکام و آسپرین از شرکت سیگما تهیه شد. به منظور استفاده از پودر، مقدار مناسبی از آن در حلال مناسب طبق دستور کارخانه سازنده حل گردید. (جدول ۱)

رده سلولی KB (سرطان سلول سنگفرشی دهان) مورد مطالعه در این بررسی از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران (NCBI) تهیه شد. سلول‌ها در محیط کشت PRMI1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی و صد میکروگرم در میلی‌لیتر استرپتومایسین و صد واحد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین (محیط کشت کامل) کشت داده شد. مدت زمان تقسیم جمعیت رده سلولی فوق بین ۱۷ تا ۲۳ ساعت (بر اساس بررسیهای اولیه در محیط آزمایشگاه) محاسبه شد. پاساژ کشت‌ها با محلول تریپسین - EDTA انجام شد. شمارش سلول با هموسایتومتر انجام گرفت. در تمامی آزمون‌ها ابتدا درصد سلول‌های زنده با رنگ تریپان بلو تعیین گردید که همواره بالای ۹۵٪ بود. (۱۵)

سنجش سمیت سلولی داروهای COX1 و COX2 به روش MTT-assay انجام گرفت. پودر داروها در حلال مناسب حل و سپس در DMSO حل شده و در برودت ۲۰- تا زمان مصرف نگهداری شدند. در سرتاسر این مطالعه از کشت سلولی در مرحله رشد و تکثیر استفاده شد. ابتدا صد میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی معادل پنجاه هزار سلول در میلی‌لیتر در محیط کشت کامل به چاهکهای پلیت‌های ۹۶ حفره‌ای ریخته شد. سپس پنجاه میکرولیتر محیط کشت کامل حاوی رقت‌های لگاریتمی داروها (۰/۳ تا سیصد

همراه نیست و پیش‌آگهی بیماران مبتلابه این سرطان دلسردکننده است و با درمان مناسب حدود ۳۰٪ ظرف مدت پنج سال می‌باشد. (۱-۴)

یکی از شایعترین راههای درمان سرطان دهان شیمی درمانی است. در این راستا گروههای بسیار مختلفی از داروها و مواد شیمیایی در سالهای اخیر برای درمان این نئوپلاسم به بازار آمده‌اند. تمامی داروهای شیمی درمانی با توجه به تحقیقات انجام شده دارای عوارض زیادی هستند (۵)، بنابراین بررسیهای متعددی در سرتاسر دنیا بر روی داروهایی که دارای تأثیرات مفیدتری به همراه اثرات جانبی کمتری باشند در دست مطالعه است. از جمله داروهایی که اخیراً مطالعاتی در زمینه آنها انجام گرفته داروهای بازدارنده آنزیم سیکلواکسیژناز است. این داروها در مقایسه با داروهای شیمی درمانی دارای عوارض کمتر، ارزانتر و سهولت دسترسی بیشتر می‌باشند، ضمناً مقبولیت و ترس کمتر مردم از این نوع درمان در مقایسه با درمانهای شیمی درمانی از محاسن استفاده از این داروها است. (۶)

کاربرد این داروها به عنوان داروهای شیمی درمانی به اثرات مفید آنها در بازداری از ایجاد سرطان خصوصاً سرطانهای دستگاه گوارش، پروستات و پستان در کسانی که از این داروها به عنوان رقیق کننده‌های خون استفاده می‌کردند باز می‌گردد. (۶)

همچنین اکثر داروهای شیمی درمانی از طریق تأثیر بر سیکل سلولی و چرخش سلول‌ها عمل کرده، لذا سایر سلول‌های سالم فرد را درگیر می‌کند، اما تأثیر داروهای Cox با توجه به مطالعات انجام شده از طریق تأثیر بر اپوپتوز سلول‌های سرطانی می‌باشد و سایر سلول‌های فرد را کمتر درگیر می‌کند که این خود یکی از محسنات قابل توجه این داروها می‌باشد. (۶-۸)

علاوه بر آن مطالعات مختلف نشان دهنده این موضوع می‌باشند که آنزیم سیکلواکسیژناز در بسیاری از آسیبهای دستگاه CNS مانند تروماها، ضربه‌ها و سکته‌های مغزی

بروز کرده و امروزه برای درمان این موارد از داروهای COX2 استفاده می‌شود. همچنین مطالعاتی در زمینه تأثیر این داروها بر روی بیماری آلزایمر در دست بررسی است. (۹-۱۲)، در ضمن آنزیم سیکلواکسیژناز در بسیاری از سلول‌های سرطانی انسانی از جمله سرطان کولون و پستان

میکروگرم در میلی‌لیتر) به شش چاهک پلیت اضافه شد. بدین ترتیب رقت نهایی بین ۰/۱ تا صد میکروگرم در میلی‌لیتر تنظیم گردید.

هر رقت دارو در سه چاهک سنجش شد. سه چاهک دارای سلول و محیط کشت کامل به عنوان کنترل منفی استفاده شدند (چاهکهای مربوط به کنترل منفی شامل تمامی مواد

جدول ۱: نام داروها و حلالهای مورد نظر بر طبق نظر کارخانه سازنده

نام دارو	حلال	میزان در حلال پایه (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	نام دارو	حلال	میزان در حلال پایه (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)
ایوبروفن	DMEM	۱۰	مفنامیک اسید	DMSO	۵۰
ناپروکسن	DMEM	۴۰	استامینوفن	NaCl	۱۰۰
ايندومتاسين	PBS	۵۰	آسپیرین	Ethanol	۱۰۰
پیروکسیکام	آب مقطر	۴۰	دیکلوفناک سدیم	Ethanol	۵۰
سلوکسیب	DMSO	۱۰	-	-	-

سلول را نسبت به کنترل ۵۰٪ کاهش می‌دهد) ارایه شدند. IC<sub>50</sub>ها از طریق رسم منحنیهای رشد سلول در برابر رقتهای مختلف دارو و از طریق رسم معادله رگرسیون غیر خطی منحنیهای رشد سلول در برابر غلظت داروها محاسبه گردید. (۱۶)، سرانجام داده‌های این مطالعه با استفاده از آزمونهای آماری Post hoc (مقایسه غلظتهای مختلف داروهای مورد استفاده بر روی میزان زنده ماندن سلول‌ها) و آزمون واریانس (مقایسه میانگین IC<sub>50</sub> داروها با یکدیگر) و برنامه آماری SPSS ویرایش ۱۳/۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

#### یافته‌ها

در این بررسی اثر سمیت سلولی نه داروی بازدارنده آنزیم سیکلوآکسیژناز بر روی رده سلولی KB مورد ارزیابی قرار گرفت. سمیت سلولی داروهای مورد استفاده بر روی سلول KB در جدول ۲ نشان داده شده است. داروهای سلوکسیب، دیکلوفناک سدیم و مفنامیک اسید به ترتیب با ارزش IC<sub>50</sub> ۱/۵، ۴/۵ و ۱۵/۴ میکروگرم در میلی‌لیتر بالاترین فعالیت را بر روی رده سلولی اعمال کردند و داروهای ایندومتاسین، ناپروکسن و آسپیرین در غلظت صد میکروگرم در میلی‌لیتر کمترین فعالیت را بر روی رده سلولی نشان دادند. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده حساسیت

داخل چاهکهای آزمایش به غیر داروهای مورد استفاده بودند). پلیت‌ها به مدت ۷۲ ساعت دیگر در شرایط استاندارد انکوبه شدند (انکوباتور شامل پنج درصد CO<sub>2</sub> و ۹۵٪ هوا در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد). پس از پایان انکوباسیون، سی‌میکرولیتر محلول MTT (۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر PBS) به هر چاهک افزوده شد و پلیت‌ها مجدداً به مدت یک ساعت انکوبه شدند. در پایان محیط کشت چاهکها به آرامی تخلیه شد و کریستال‌های رنگ فورمازان راسب شده در سیتوپلاسم سلول‌ها با افزودن صد میکرو لیتر DMSO به هر چاهک به صورت کامل حل شد. شدت رنگ (شدت جذب نوری) با دستگاه ثبت الیزا (طول موج ۴۹۲ نانومتر و فرکانس ششصد و سی نانومتر) تعیین شد. تمام مراحل پنج بار تکرار شدند و میانگین جذب نوری به منزله فعالیت میتوکندری در نظر گرفته شد. (۱۵) درصد رشد و تکثیر سلول در هر رقت دارو با استفاده از رابطه زیر تعیین شد:

$$\text{درصد سلول‌های زنده} \times \frac{\text{شدت جذب بلانک} - \text{شدت جذب در حضور دارو}}{\text{شدت جذب بلانک} - \text{شدت جذب کنترل}}$$

نتایج حاصل از بررسی متغیرها به صورت نمودار در دستگاههای اندازه‌گیری (دستگاه الیزا یا تست MTT) ثبت گردید و سپس این اطلاعات مربوط به اثر داروها بر روی رشد سلول KB با شاخص IC<sub>50</sub> (غلظتی از دارو که رشد

IC50 داروهای مفنامیک اسید، سلوکسیب و دیکلوفناک سدیم با گروه کنترل معنی‌دار می‌باشد. (به ترتیب  $P=0/03$ ،  $P=0/001$ ،  $P=0/001$ )

در جدول ۴ تأثیر غلظت‌های مختلف داروهای مورد استفاده بر روی میزان زنده ماندن سلول‌ها با استفاده از آزمون post hoc محاسبه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود در داروهای دیکلوفناک سدیم و سلوکسیب غلظت‌های مختلف با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند.

متفاوت رده سلولی KB به داروهای مختلف و در غلظت‌های متفاوت می‌باشد.

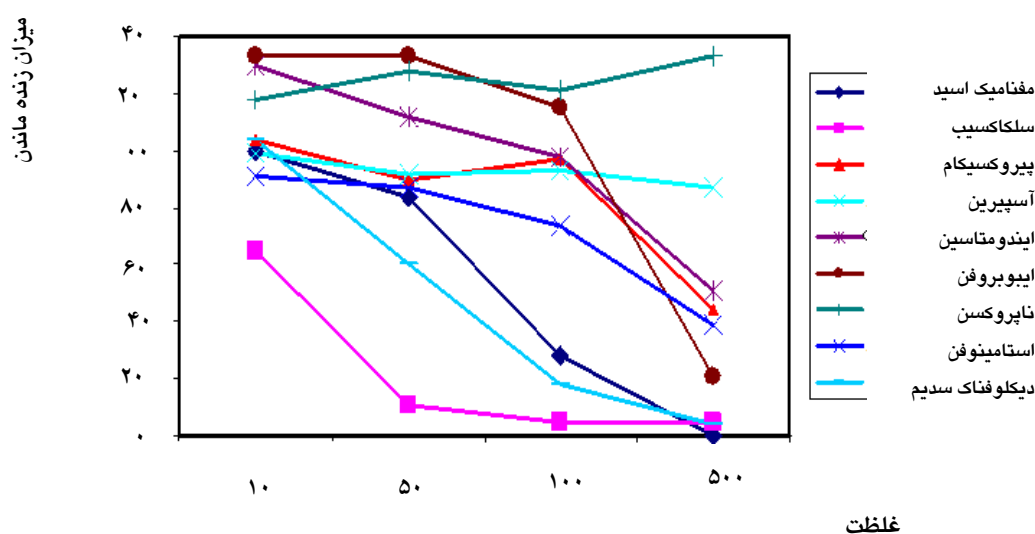
نمودار ۱ نشان‌دهنده میزان Viability رده سلولی مورد نظر در غلظت‌های مختلف دارویی می‌باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود داروی سلوکسیب نسبت به سایر داروها در تمامی موارد دارای اثرات چشمگیری می‌باشد.

جدول ۳ نشان‌دهنده سمیت سلولی داروهای مورد استفاده بر روی رده سلولی KB بر اساس میانگین IC50 و مقایسه با گروه کنترل می‌باشد. این مطالعه نشان داد که میانگین

جدول ۲: میزان زنده ماندن سلول‌ها (Viability) بر حسب غلظت داروهای مورد استفاده (میکروگرم در میلی‌لیتر)

نام دارو	ایبوبروفن	ناپروکسن	ایندومتاسین	مفنامیک اسید	پیروکسیکام	آسپرین	سلوکسیب	دیکلوفناک سدیم
غلظت	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
Viability(M±SD)★	۱۳۳±۱/۳	۱۱۸±۱/۸	۱۳۰±۰/۹	۱۰۰±۶/۳	۱۰۴±۰/۹	۹۹±۰/۶	۹۵±۰/۵	۱۰۴±۰/۵
غلظت	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
Viability(M±SD)★	۱۲۳±۶/۱	۱۲۸±۳/۱	۱۱۲±۳/۶	۸۴±۵/۸	۹۰±۴/۱	۹۲±۰/۹	۱۱±۰/۶	۶۰±۳/۶
غلظت	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰
Viability(M±SD)★	۱۱۵±۰/۸	۱۲۱±۰/۶	۹۸±۷/۲	۲۸±۰/۶	۹۷±۲/۷	۹۳±۰/۴	۵±۰/۸	۱۸±۱/۳
غلظت	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
Viability(M±SD)★	۲۱±۱/۱	۱۳۳±۷/۱	۵۱±۳/۴	۰	۴۴±۱/۱	۸۷±۰/۱	۵±۰/۸	۴±۰/۶

★ میانگین و Standard Deviation میزان زنده ماندن سلول‌ها



نمودار ۱: میزان Viability رده سلولی KB در غلظت‌های مختلف دارویی

جدول ۳: مقایسه میانگین IC50 هر یک از داروهای بازدارنده سیکلواکسیژناز بر رده سلولی KB با گروه کنترل با استفاده از آزمون واریانس

دارو	رده سلولی	*غلظت دارو	MeanIC50**	P.V***
ایبوبروفن		۳۵/۲	۲۸/۵	۰/۰۸
ناپروکسن		۶۲/۵	۵۰	۰/۲
ایندومتاسین		۵۸/۱	۵۰	۰/۲
پیروکسیکام		۵۲/۸	۴۶/۸	۰/۱۷
مفنامیک اسید		۱۸/۲	۱۵/۴	۰/۰۳
استامینوفن		۴۷/۴	۳۵/۵	۰/۱
آسپیرین		۵۳/۹	۵۰	۰/۲
دیکلوفناک سدیم		۴/۲	۴/۵	۰/۰۰۱
سلوکسیب		۱/۵	۱/۵	۰/۰۰۱

سلول به مدت سه روز با رفتهای ۰/۱ تا صد میکروگرم در میلی‌لیتر داروهای بازدارنده آنزیم سیکلواکسیژناز مجاور شدند. سپس فعالیت متابولیکی سلول با روش MTT assay سنجش شد.

\*غلظت دارو (میلی‌گرم در لیتر) که رشد سلول را ۵۰٪ نسبت به کنترل کاهش می‌دهد.

\*\*میانگین IC50های رده سلول KB مربوط به هر دارو

\*\*\* P.V نسبت به گروه کنترل

جدول ۴: مقایسه غلظتهای مختلف داروهای مورد استفاده بر روی میزان زنده ماندن سلول‌ها با

استفاده از آزمون post hoc

( $P.V < 0.05$  معنی دار می‌باشد).

نام دارو	غلظت	غلظت	نتیجه آزمون (P.V)	نام دارو	غلظت	غلظت	نتیجه آزمون (P.V)	نام دارو	غلظت	غلظت	نتیجه آزمون (P.V)
ایبوبروفن	۰/۱	۱۰	۰/۰۹۴	ناپروکسن	۰/۱	۱۰	۰/۰۷۹	ایندومتاسین	۰/۱	۱۰	۰/۲۲۱
	۰/۱	۵۰	۰/۰۰۹		۰/۱	۵۰	۰/۸۹۱		۰/۱	۵۰	۰/۰۰۲
	۰/۱	۱۰۰	۰/۰۰۰۱		۰/۱	۱۰۰	۰/۰۰۸		۰/۱	۱۰۰	۰/۰۰۰
	۱۰	۵۰	۰/۷۷۶		۱۰	۵۰	۰/۳۱۶		۱۰	۵۰	۰/۰۸۷
	۱۰	۱۰۰	۰/۰۰۰		۱۰	۱۰۰	۰/۵۴۴		۱۰	۱۰۰	۰/۰۰۰
	۵۰	۱۰۰	۰/۰۰۰		۵۰	۱۰۰	۰/۰۴۴		۵۰	۱۰۰	۰/۰۰۰
مفنامیک اسید	۰/۱	۱۰	۰/۰۷۸	دیکلوفناک سدیم	۰/۱	۱۰	۰/۰۰۰	سلوکسیب	۰/۱	۱۰	۰/۰۰۰
	۰/۱	۵۰	۰/۰۰۰		۰/۱	۵۰	۰/۰۰۰		۰/۱	۵۰	۰/۰۰۰
	۰/۱	۱۰۰	۰/۰۰۰		۰/۱	۱۰۰	۰/۰۰۰		۰/۱	۱۰۰	۰/۰۰۰
	۱۰	۵۰	۰/۰۰۰		۱۰	۵۰	۰/۰۰۰		۱۰	۵۰	۰/۰۰۰
	۱۰	۱۰۰	۰/۰۰۰		۱۰	۱۰۰	۰/۰۰۰		۱۰	۱۰۰	۰/۰۰۰
	۵۰	۱۰۰	۰/۰۱۱		۵۰	۱۰۰	۰/۰۰۱		۵۰	۱۰۰	۱
پیروکسیکام	۰/۱	۱۰	۰/۰۰۶	استامینوفن	۰/۱	۱۰	۰/۳۲۱	آسپیرین	۰/۱	۱۰	۰/۰۲
	۰/۱	۵۰	۰/۲۲۳		۰/۱	۵۰	۰/۰۲۲		۰/۱	۵۰	۰/۰۱
	۰/۱	۱۰۰	۰/۰۰۰		۰/۱	۱۰۰	۰/۰۲		۰/۱	۱۰۰	۰/۰۰۰
	۱۰	۵۰	۰/۱۹۸		۱۰	۵۰	۰/۰۸۷		۱۰	۵۰	۰/۹۸۱
	۱۰	۱۰۰	۰/۰۰۰		۱۰	۱۰۰	۰/۰۱		۱۰	۱۰۰	۰/۰۰۰
	۵۰	۱۰۰	۰/۰۰۰		۵۰	۱۰۰	۰/۰۷		۵۰	۱۰۰	۰/۰۱

## بحث

امروزه سرطان و درمان این بیماری به عنوان یک مشکل جهانی مطرح می‌باشد. روشهای درمانی این بیماری و خصوصاً درمانهای شیمی درمانی با توجه به عوارض نه چندان مطلوب و عوارض سیستمیک آن از درمانهای مناسب نبوده و جایگزینی یک روش درمانی ارزاتر، ساده‌تر و کم خطرتر بسیار مطلوب می‌باشد. در این زمینه کشف داروهای جدید و نیز کشف خواص جدید داروهای موجود در دسترس عموم که عوارض جانبی کمتر و نتایج درمانی بهتری داشته باشند از اهمیت خاصی برخوردار است که از آنجمله می‌توان به داروهای بازدارنده آنزیم سیکلواکسیژناز اشاره کرد. این داروها در اواخر سال ۱۹۲۰ به عنوان ضد درد در درمان بیماران مبتلا به سرطان استفاده شدند. تأثیرات این داروها به عنوان داروهای شیمی درمانی بر روی سرطان مربوط به مطالعات سال ۱۹۷۰ می‌باشد. (۶)

مطالعات نشان داده‌اند که داروهای بازدارنده آنزیم سیکلواکسیژناز دارای اثر سمیت سلولی و بازدارندگی بر روی سلول‌های سرطانی می‌باشند. (۹، ۱۲، ۱۷-۱۸)

تحقیقات نشان داده‌اند که داروهای شیمی درمانی از طریق تأثیر بر سیکل سلولی و چرخش سلول‌ها عمل کرده، لذا سایر سلول‌های سالم فرد را نیز درگیر می‌کنند. در صورتی که داروهای بازدارنده آنزیم سیکلواکسیژناز با توجه به مطالعات انجام شده دارای اثرات فعال کردن پدیده آپوپتوزیس، Antineovascularization, Antiangiogenesis و تقویت سیستم ایمنی بوده و لذا سایر سلول‌های فرد را کمتر درگیر می‌کنند که این خود یکی از محسنات قابل توجه این داروها می‌باشد. (۶-۷، ۱۹-۲۴) این مطالعه نشان داد که داروی Celecoxib دارای اثرات سمیت سلولی قابل ملاحظه‌ای بر روی رده سلولی KB حتی در غلظتهای بسیار پایین می‌باشد. Matthias و همکاران در سال ۲۰۰۷ با کار بر روی سی نمونه سرطان سلول سنگفرشی حنجره نشان دادند که Defragment شدن زنجیره DNA در سلول‌های سرطانی و پیش سرطانی به طور قابل توجهی در اثر استفاده از داروی سلکوکسیب کاهش می‌یابد. آنها نتیجه گرفتند که استفاده از این داروی باز دارنده آنزیم سیکلواکسیژناز با توجه به عوارض کمتر آن بر بسیاری از داروهای شیمی درمانی ارجحیت دارد. (۱۹) Fosslein نشان داد که سلکوکسیب تکثیر سلول‌های تمایز یافته سرطان ریه را

کاهش می‌دهد. (۲۵)، همچنین این دارو دارای اثر بازدارندگی بر روی سلول‌های سرطانی کبد، تخمدان و کلورکتال می‌باشد. (۹، ۱۲، ۱۷-۱۸)، Niho و همکاران در سال ۲۰۰۶ با بررسی سرطان کولون در موش نر و تأثیر Mofezolac (ترکیبی از مفنامیک اسید) به این نتیجه رسیدند که این دارو بر روی سرطان‌های ناحیه کولون مؤثر بوده و در پیشگیری از سرطان کولون انسانی نیز مؤثر می‌باشد. (۲۶)، همچنین این مطالعه نشان داد که داروهای مفنامیک اسید دارای اثرات سمیت سلولی قابل ملاحظه‌ای بر روی رده سلولی KB حتی در غلظتهای بسیار پایین می‌باشند. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده این موضوع می‌باشد که داروی دیکلوفناک سدیم نیز دارای اثرات سمیت سلولی قابل ملاحظه‌ای بر روی رده سلولی KB می‌باشد که تاکنون تحقیقی بر روی جمعیت انسانی در این زمینه انجام نشده است.

این مطالعه نشان داد که داروی آسپیرین حتی در غلظتهای بالا دارای اثر سمیت سلولی قابل ملاحظه‌ای بر روی رده سلولی KB نبوده و به عبارتی دارای اثر بازدارندگی مناسبی نمی‌باشد. Colleselli و همکاران، Atula و همکاران و Jaeckel و همکاران در تحقیقات خود نشان دادند که داروی آسپیرین نه تنها دارای اثر بازدارندگی بر روی سلول‌های سرطانی نمی‌باشد بلکه سبب رقیق شدن خون بیماران شیمی درمانی و سبب ایجاد مشکلات فراوان در این بیماران می‌شود. (۲۷-۳۲) اگر چه در زمینه تأثیر داروی آسپیرین بر روی سلول‌های سرطانی تحقیقاتی دیگر نظر کاملاً مخالفی را ارائه داده‌اند، از جمله مطالعات انجام شده در اواخر سال ۱۹۷۰ نشان داد که استفاده منظم از آسپیرین می‌تواند سبب کاهش چشمگیر ریسک سرطانهای دستگاه گوارش شود. (۶)، تحقیقاتی انجام شده توسط Moysich و همکاران (۳۳) بر روی ۸۶۸ بیمار مبتلا به سرطان ریه و ۹۳۵ نفر گروه کنترل نشان داد که این دارو دارای اثر بازدارندگی مناسبی بر روی ایجاد سرطان ریه بوده و افراد استفاده کننده از این دارو به صورت منظم، احتمال کمتری برای ایجاد این سرطان کشنده دارند. همچنین تحقیق انجام شده در مرکز سرطان آمریکا و انگلیس نشان‌دهنده این موضوع می‌باشد که داروی آسپیرین می‌تواند سبب کاهش بروز سرطانهای معده، مری، ریه، کلورکتال و پروستات شود. (۲۵، ۳۴) یکی از علل اختلاف مطالعه حاضر با مطالعات انجام شده در زمینه تأثیر آسپیرین می‌تواند این موضوع

باشد که کلیه تحقیقاتی انجام شده بر روی جمعیت‌های انسانی و با غلظت بالای آسپیرین بوده‌اند (حداقل سیصد میلی‌گرم در روز)، در صورتی‌که در تحقیق فوق پودر آسپیرین رقیق و حداکثر با غلظت صد میکرولیتر استفاده شده است. البته قابل ذکر است که بر اساس تحقیقاتی آسپیرین در غلظت‌های بالا سبب رقت خون و ایجاد مشکلات برای بیماران تحت شیمی درمانی می‌شود و در زمینه مفید بودن آن در درمان بیماران سرطانی اختلاف نظر وجود دارد.

این مطالعه نشان داد که داروی ایندومتاسین دارای اثر سمیت سلولی قابل ملاحظه‌ای بر روی رده سلولی KB نمی‌باشد. اگر چه در زمینه تأثیر داروی ایندومتاسین بر روی سلول‌های سرطانی تحقیقاتی دیگر نظر کاملاً مخالفی را ارائه داده‌اند. مطالعه انجام شده توسط Lundholm و همکاران در مرکز سرطان سوئد نشان داد که استفاده همزمان از داروی ایندومتاسین و داروهای شیمی درمانی در بیماران با متاستاز سبب کاهش درد و زمان زنده ماندن طولانیتر در این بیماران می‌شود. (۳۵)

مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که تأثیر بازدارندگی داروهای COX1 و COX2 بر روی سلول‌های بدخیم می‌تواند ناشی از این موضوع باشد که در تعداد بسیار زیادی از انواع سرطانها آنزیم سیکلواکسیژناز بروز می‌کند و یا به عبارتی این آنزیم یک واسطه شیمیایی در بروز التهابها می‌باشد. (۶)، تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از داروهای بازدارنده آنزیم سیکلواکسیژناز حتی سبب کاهش بروز سرطانها می‌شود. از جمله به مطالعات انجام شده توسط Harris و همکاران، Norrish و همکاران، Roberts و همکاران، Williams و همکاران، Thun و همکاران، Alshafie و همکاران و Reddy و همکاران می‌توان اشاره کرد که به نظر این محققان استفاده از داروهای COX1 و COX2 سبب کاهش ۵۰-۹۳ درصدی بروز سرطانهای کولورکتال، پروستات، ریه، کبد و پستان می‌شود. (۱۷، ۳۶-۴۲)، مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از داروهای بازدارنده آنزیم سیکلواکسیژناز سبب طولانیتر شدن زمان زنده ماندن بیماران در سرطانهای پستان، دستگاه گوارش و ریه می‌شود. (۴۳-۴۶)، تحقیقاتی بیانگر این موضوع می‌باشند که میزان COX1 و COX2 در سلول‌های تومورال نسبت به سلول‌های سالم افزایش نشان می‌دهد.

Atula و همکاران و Erovic و همکاران با بررسی ایمونوهیستوشیمیایی نمونه‌های سرطان دهان، اروفارنکس و هیپوفارنکس مقادیر متغیری از COX1 و COX2 را در سلول‌های تومورال مشاهده کردند. این محققان دریافتند که بروز COX2 در مقایسه با COX1 در سلول‌های تومورال افزایش یافته است و نتیجه گرفتند که بروز COX2 در این نمونه‌های تومورال از این فرضیه که این آنزیم می‌تواند یکی از واسطه‌های مهم بین التهاب و سرطان‌زایی باشد حمایت می‌کند. (۱۲، ۲۹) Jaeckel و همکاران و Fosslein نیز با بررسی بروز COX-1 و COX-2 در نمونه‌های بافتی بیماران مبتلا به سرطان سلول سنگفرشی سر و گردن، سرطان کولون و سرطان پوست مقادیر افزایش یافته‌ای از COX-1 و COX-2 را مشاهده کردند. (۲۵، ۲۷)، افزایش بیش از حد و یا به عبارتی بروز بیش از حد آنزیم سیکلواکسیژناز در سرطانهای کولون، پروستات، پستان، پانکراس، ریه، مثانه، رحم، مری، معده، مغز و پوست نیز گزارش شده است. (۹، ۱۲-۱۴ و ۴۷-۴۹)، مطالعات مختلف ژنتیکی نشان داده‌اند که ارتباطی بین بروز آنزیم سیکلواکسیژناز و تومورزایی وجود دارد و بروز بیش از حد COX2 در پولیپ‌های موشهای مبتلا به پولیپ آدنومای فامیلیال با احتمال سرطان‌زایی بالا مشاهده شده است. (۵۰-۵۱)

### نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که داروی سلکوکسیب، مفنامیک اسید و دیکلوفناک سدیم در غلظت ۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر دارای اثر سمیت سلولی بوده و به نظر می‌رسد که تعدادی از مواد تشکیل دهنده آنها دارای اثرات ضدسرطانی بر روی سلول KB می‌باشند، بنابراین می‌توانند به عنوان یک داروی ضدسرطان در مرحله آزمایشگاهی مطرح باشند.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه با عنوان طرح شماره ع/۴۰-۸۵ و با کد اخلاقی کا/ع/۴۰-۸۵ در مرکز تحقیقات علوم و اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان به تصویب رسیده و با پشتیبانی مالی این مرکز انجام شده است. بدین‌وسیله مراتب قدردانی از این مرکز اعلام می‌گردد.

## REFERENCES

1. Effiom OA, Adeyemo WL, Omitola OG, Ajayi OF, Emmanuel MM, Gbotolorun OM. Oral squamous cell carcinoma: A clinicopathologic review of 233 cases in Lagos, Nigeria. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008 Aug; 66 (8): 1595-9.
2. Oji C, Chukwuneke FN. Oral cancer in Enugu, Nigeria, 1998-2003. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2007 Jun; 45(4):298-301.
3. Al-Rawi NH, Talabani NG. Squamous cell carcinoma of the oral cavity: A case series analysis of clinical presentation and histological grading of 1,425 cases from Iraq. *Clin Oral Investig*. 2008 Mar; 12(1):15-8.
4. Ajayi OF, Adeyemo WL, Ladeinde AL, Ogunlewe MO, Effiom OA, Omitola OG, et al. Primary malignant neoplasms of orofacial origin: a retrospective review of 256 cases in a Nigerian tertiary hospital. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2007 May; 36(5):403-8.
5. Little JW, Falace DA, Miller CS, Rhodus NL. Dental management of the medically compromised patients. 7<sup>th</sup> St. Saint Louis: Mosby-Year Book; 2008, pp: 433-464.
6. Mazhar D, Gillmore R, Waxman J. COX and cancer. *Quarter J Med*. 2005 Oct; 98(10):711-8.
7. Chan G, Boyle JO, Yang EK. Cyclooxygenase-2 Expression is Up-Regulated in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Am Assoc Cancer Res*. 1999 Jun; 59(7): 991-994.
8. Masferrer GL, Leahy KM, Alane T. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 Inhibitors. *Am Assoc Cancer Res*. 2000 Mar; 60(5):1306-11.
9. Bodey B, Siegel SE, Kaiser HE. Cyclooxygenase-2 (COX-2) overexpression in childhood brain tumors. *In Vivo*. 2006 Jul-Aug; 20(4):519-25.
10. Minghetti L. Cyclooxygenase-2 (COX-2) in inflammatory and degenerative brain diseases. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2004 Sep; 63(9):901-10.
11. Hoffmann C. COX-2 in brain and spinal cord implications for therapeutic use. *Curr Med Chem*. 2000 Nov; 7(11):1113-20.
12. Guo XR, Zhou YW, Ma YL. The expression of COX-1 and COX-2 following brain injuries. *Fa Yi Xue Za Zhi*. 2005 Aug; 21(3):223-5.
13. Ristimäki A, Sivula A, Lundin J, Lundin M, Salminen T, Haglund C, et al. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer. *Cancer Res*. 2002 Feb; 62(3):632-5.
14. Zhang XH, Huang DP, Guo GL, Chen GR, Zhang HX, Wan L, Chen SY. Coexpression of VEGF-C and COX-2 and its association with lymphangiogenesis in human breast cancer. *BMC Cancer*. 2008 Jan; 8(1):4.
15. Shimada Y, Maeda M, Watanabe G, Yamasaki S, Komoto I, Kaganoi J, et al. Cell culture in esophageal squamous cell carcinoma and association with molecular markers. *Clin Cancer Res*. 2003 Jan; 9(3): 243-249.
16. Ulukaya E, Colakogullari M, Wood EJ. Interference by anti-cancer chemotherapeutic agents in the MTT-tumor chemosensitivity assay. *Chemotherapy* 2004 Apr; 50(1):43-50.
17. Harris RE, Beebe-Donk J, Alshafie GA. Reduced risk of human lung cancer by selective cyclooxygenase 2 (COX-2) blockade: results of a case control study. *Int J Biol Sci*. 2007 Jun; 3(5):328-34.
18. Steinbach G, Lynch PM, Phillips RK, Wallace MH, Hawk E, Gordon GB, et al. The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *N Eng J Med*. 2000 Jun 29; 342(26):1946-52.



19. Matthias C, Schuster MT, Zeiger S, Harreus U. Cox-2 inhibitors celecoxib and refecoxib prevent oxidative DNA fragmentation. *Anticancer Res.* 2006 May-Jun; 26(3A):2003-7.
20. Hida T, Kozaki K, Ito H, Miyaishi O, Tatematsu Y, Suzuki T, et al. Significant growth inhibition of human lung cancer cells both in vitro and in vivo by the combined use of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, JTE-522, and conventional anticancer agents. *Clin Cancer Res.* 2002 Jul; 8(7):2443-7.
21. Zhu YM, Azahri NS, Yu DC, Woll PJ. Effects of COX-2 inhibition on expression of vascular endothelial growth factor and interleukin-8 in lung cancer cells. *BMC Cancer.* 2008 Jul; 8(3):218.
22. Hwang DH, Fung V, Dannenberg AJ. National Cancer Institute Workshop on chemopreventive properties of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: role of COX-dependent and independent mechanisms. *Neoplasia* 2002 Mar-Apr; 4(2):91-7.
23. Tatsuguchi A, Matsui K, Shinji Y, Gudis K, Tsukui T, Kishida T, et al. Cyclo-oxygenase-2 expression is related to prostaglandin biosynthesis and angiogenesis in human gastric cancer. *Hum Pathol.* 2004 Apr; 35(4):488-95.
24. Schwartz JJ, Dallob AL, Larson PJ, Laterza OF, Miller J, Royalty J, et al. Comparative inhibitory activity of etoricoxib, celecoxib, and diclofenac on COX-2 versus COX-1 in healthy subjects. *J Clin Pharmacol.* 2008 Jun; 48(6):745-54.
25. Fosslein F. Molecular pathology of cox-2 in neoplasia. *Ann Clin Lab Sci.* 2000 Jul; 30(1):3-21.
26. Niho N, Kitamura T, Takahashi M, Mutoh M, Sato H, Matsuura M, Sugimura T, Wakabayashi K. Suppression of azoxymethane-induced colon cancer development in rats by a cyclooxygenase-1 selective inhibitor, mofezolac. *Cancer Sci.* 2006 Oct; 97(10):1011-4.
27. Lang S, Picu A, Hofmann T, Andratschke M, Mack B, Moosmann A, et al. Cox-inhibitors relieve the immunosuppressive effect of tumor cells and improve functions of immune effectors. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2006 Apr-Jun; 19(2):409-19.
28. Duan WZ, zang L. Cyclooxygenase inhibitors not inhibit resting lung cancer A-549 cell proliferation. Prostaglandins, leukotrienes & essential fatty acids. 2006 May; 74(5):317-21.
29. Erovic BM, Pelzmann M, Tuahani D, Pammer J, Neideberger V, Neuchrist C, et al. Differential expression pattern of cox-1 and cox-2 in head and neck scc. *Acta Otolaryngol.* 2003 Oct; 123(8):950-3.
30. Chan AT, Ogino S, Fuchs CS. Aspirin and the risk of colorectal cancer in relation to the expression of COX-2. *N Engl J Med.* 2007 May 24; 356(21):2131-42.
31. Leitzmann MF, Stampfer MJ, Ma J, Chan JM, Colditz GA, Willett WC, et al. Aspirin use in relation to risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002 Oct; 11(10 Pt 1):1108-11.
32. Paganini-Hill A. Aspirin and colorectal cancer. The leisure world cohort revisited. *Prev Med.* 1995 Mar; 24(2): 113-5.
33. Moysich KB, Menezes RJ, Ronsani A, Swede H, Reid ME, Cummings KM, et al. Regular aspirin use and lung cancer risk. *Bio Med Cent Can.* 2002 Nov 26; 2:31.
34. Laws ER, Parney IF, Huang W, Anderson F, Morris AM, Asher A, et al. Survival following surgery and prognostic factors for recently diagnosed malignant glioma: data from the glioma outcomes project. *J Neurosurg.* 2003 Sep; 99(3):467-73.

35. Lundholm K, Gelin J, Hylander A, Lönnroth C, Sandström R, Svaninger G, et al. Anti-inflammatory treatment may prolong survival in undernourished patients with metastatic solid tumors. *Cancer Res.* 1994 Nov 1; 54(21):5602-6.
36. Norrish AE, Jackson RT, McRae CU. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and prostate cancer progression. *Int J Cancer.* 1998 Aug;77(4):511-5.
37. Roberts RO, Jacobson DJ, Girman CJ, Rhodes T, Lieber MM, Jacobsen SJ. A population-based study of daily nonsteroidal anti-inflammatory drug use and prostate cancer. *Mayo Clin Proc.* 2002 Aug 12; 77(4):511-5.
38. Williams CS, Watson AJ, Sheng H, Helou R, Shao J, DuBois RN. Celecoxib prevents tumor growth in vivo without toxicity to normal gut: lack of correlation between in vitro and in vivo models. *Cancer Res.* 2000 Nov 1; 60(21):6045-51.
39. Thun MJ, Henley SJ, Patron OC. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic, and clinical issues. *J Natl Cancer Inst.* 2002 Feb 20; 94(4):252-66.
40. Alshafie GA, Abou-Issa HM, Seibert K, Harris RE. Chemotherapeutic evaluation of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in a rat mammary tumor model. *Oncol Rep.* 2000 Nov-Dec; 7(6):1377-81.
41. Reddy BS, Hirose Y, Lubet R, Steele V, Kelloff G, Paulson S, et al. Chemoprevention of breast cancer in rats by celecoxib – a cyclooxygenase-2 inhibitor. *Cancer Res.* 2000 Jan 15; 60(2):293-7.
42. Harris RE, Beebe-Donk J, Alshafie GA. Similar reductions in the risk of human colon cancer by selective and nonselective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors. *BMC Cancer.* 2008 Aug 14; 8(1):237.
43. Lin E, Morris JS, Ayers GD. Effect of celecoxib on capacitabine-induced hand-and-foot syndrome and antitumor activity. *Oncology* 2002 Dec; 16(12 Suppl No 14):31-7.
44. Koki AT, Masterrer JL. Celecoxib: A specific COX-2 inhibitor with anticancer properties. *Cancer Control* 2002 Mar-Apr; 9(2 Suppl):28-35.
45. Khor LY, Bae K, Pollack A, Hammond ME, Grignon DJ, Venkatesan VM, et al. COX-2 expression predicts prostate-cancer outcome: analysis of data from the RTOG 92-02 trial. *Lancet Oncol.* 2007 Oct; 8(10):912-20.
46. Mao XY, Wang XG, Lv XJ, Xu L, Han CB. COX-2 expression in gastric cancer and its relationship with angiogenesis using tissue microarray. *World J Gastroenterol.* 2007 Jul 7; 13(25):3466-71.
47. Van Dyke AL, Cote ML, Prysak G, Claeys GB, Wenzlaff AS, Schwartz AG. Regular adult aspirin use decreases the risk of non-small cell lung cancer among women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008 Jan; 17(1):148-57.
48. Gupta S, Srivastava M, Ahmad N, Bostwick DG, Mukhtar H.. Overexpression of cyclooxygenase-2 in human prostate adenocarcinoma. *Prostate* 2000 Jan; 42(1):73-8.
49. Gasparini G, Longo R, Sarmiento R, Morabito A. Inhibitors of cyclo-oxygenase 2: A new class of anticancer agents? *Lancet Oncol.* 2003; Oct; 4(10):605-15.
50. Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, Oshima H, Hancock B, Kwong E, et al. Suppression of intestinal polyposis in Apc A716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase-2. *Cell* 1996 Nov; 87(5):803-9.
51. Sugimoto T, Koizumi T, Sudo T, Yamaguchi S, Kojima A, Kumagai S, Nishimura R. Correlative expression of cyclooxygenase-1 (Cox-1) and human epidermal growth factor receptor type-2 (Her-2) in endometrial cancer. *Kobe J Med Sci.* 2007 Jun; 53(5):177-87.