اثر شوک حرارتی بر دودمان سلولی GH_3/B_6

یاسمن رسولی* ، لادن دلفی ، کاوه دانشور، حوری سپهری

تهران، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست شناسی

تاریخ دریافت ۸٤/۳/۲۰ تاریخ پذیرش:۸۵/۱۱/۱۱

چکیده

پژوهش حاضر بر روی اثر شوک حرارتی در رشد و درصد زیستایی دودمان سلولی GH_3/B_6 انجام شده است. این دودمان سلولی مشتق از سلولهای توموری هیپوفیز قدامی موش صحرایی می باشد که خصوصیت ویژه آنها ترشح هورمون پرولاکتین است. از آنجائیکه این سلولها بعنوان ابزاری در نوروآندوکرینولوژی می باشند، مطالعات بیشتر در زمینه تغییرات ترشحی آنها تحت شرایط مختلف صورت گرفته است. افزایش دما در شرایط کنترل شده منجر به مشاهده تغییراتی در مورفولوژی این سلولها می گردد. این تغییرات بمدت زمانیکه سلول در معرض شوک حرارتی قرار گرفته ونیز مقدار شوک بستگی دارد، طوریکه سلولها دمای ٤١ درجه سانتی گراد (حرارت ملایم) را بخوبی تحمل کرده و در دماهای بالاتر (حرارت شدید) تغییراتی در میزان چسبندگی، شکل سلولی و درصد زیستایی قابل مشاهده است.

واژه های کلیدی: سلولهای GH3/B6 ، شوک حرارتی، درصد زیستایی

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۳۳۳۷۷٤٤ – ۰٥٤٥، پست الکترونیک: rassouli@kayayam.ut.ac.ir

مقدمه

تنشهای شیمیائی و فیزیکی از جمله شوک حرارتی (Thermal stress) ، بصورت تنها و یا همراه با عوامل بیولوژیکی، شیمیائی و فیزیکی بعنوان عامل تغییرات فرآیندهای داخل سلولی مطرح می شوند و درپاره ای از موارد بعنوان یک عامل سمی و یا محرک فعالیت عوامل سمی عمل می کنند (٤). مطالعات انجام شده بر روی شوک حرارتی نشان دهنده اثر این عامل بعنوان تنش بر بخشهای مختلف سلول و تغییرات ساختاری و عملکردی سلول می باشد (۷). عامل حرارت بطور مستقیم یا غیرمستقیم تغییراتی در پروتئینهای سلول القا می کند که منجر به تجمع(Aggregation) و نهایتاً تخریب عملکرد اجزای سلول می شود. واکنش به یک شوک حرارتی معمولاً یک مکانیزم هموستاتیک در سلولهای زنده است که اجازه مقاومت در مقابل حرارت را به سلول می دهد(۸).

توانایی موجودات در غلبه به تنشهای محیطی و فیزیولوژیکی به یک مقاومت سریع و هماهنگ بستگی دارد. یک عکس العمل مشترک همه پروکاریوتها و یوکاریوتها در غلبه بر دما القای گروهی از پروتئینها به نام پروتئینهای شوک حرارتی((Heat shock proteins(hsp) در سطح رونویسی است. این مولکولها حتی در شرایط غیرتنش، مانند رشد طبیعی سلول، تاخوردگی پروتئینها، جا بجائی و پروتئولیز نیز لازم می باشد(۳). این پروتئینها که به مقاومت در برابر تنش کمک می کنند به دسته ای از پروتئینها بنام چاپرونها (Chaperons) تعلق دارند. چاپرونها با اتصال به بخشهای آبگریز حالتهای حد واسط پروتئینها به بسته بندی صحیح آنها کمک نموده و یا مانع از این عمل می گردند . بیان پروتئینهای شوک حرارتی در شرایط طبیعی سلول، اندک است. القای یک شوک به سلول میزان بیان را بشدت افزایش می دهد، در این حالت ژنهای کد

Archive of SID

www.SID.ir

کننده خاموش این پروتئینها توسط یک مهارکننده (Repressor) ، با واسطه سیگنال ایجاد شده در اثر شوک، از مهار کننده آزاد شده و آنزیمهای RNA پلیمراز رونویسی آنها را شروع می کنند(۹). hsp70 یکی از اعضای خانواده پروتئینهای شوک حرارتی می باشد . این پروتئین بعنوان یک چاپرون حفاظت سلولها را در مواجه با شوک حرارتی کشنده منجر به دناتوره شدن پروتئینهای سلولی، را برعهده دارد(۳).

افزایش درجه حرارت تا میزان ٤٢ درجه سانتی گراد در اکثر سلولهای جانوری منجر به افزایش القای پروتئینهای شوک حرارتی می شود تا سلول بتواند به حیات خود ادامه دهد. در اکثر انواع سلولها، تحت این شرایط سنتز سایر پروتئینهای سلول متوقف شده و تنها بیان پروتئینهای شوک حرارتی بالا می رود. hsp ها از حفاظت شده ترین خانواده های پروتئینی در طی تکامل هستند و در اکثر بخشهای سلولی نظیر هسته، سیتوپلاسم، میتوکندری و هستک وجود دارند، با این وجود نقش این پروتئینها در فرآیندهای اساسی سلول کاملاً مشخص نشده است (۱۲).

در پژوهش حاضر اثر شوک حرارتی بر سلولهای توموری هیپوفیز قدامی GH3/B6 مطالعه شده و در طی آن سعی شده است تا تغییرات مورفولوژیکی، میزان رشد و حتی الگوی بیان پروتئینها در شرایط طبیعی با شرایط مذکور مقایسه گردد.

مواد و روشها

سلولهای GH3/B6 یک زیر کلون از دودمان سلولی GH می باشند که از تومور ماموسوماتوتروپیک MtT/WS بافت هیپوفیز جدا شده اند(١٤). این سلولها در محیط Ham's F12 باضافه ۱۵ درصد سرم اسب و ۲/۵ درصد سرم جنین گاو غیرفعال شده بعنوان مکمل استفاده و در شرایط ۹۵ درصد رطوبت ، ۵ درصد CO_2 و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کشت داده شد.

این سلولها پس از ٤٨-٢٤ ساعت در صورت مناسب بودن شرایط بصورت تک لایه ای به سطح فلاسک چسبیده و شروع به رشد می نمایند، پس از ۵ روز سلولها با پرکردن سطح فلاسک، آماده واکشت (پاساژ) می شوند (۱). تحت این شرایط سلولها با محلول (۰/۰۲۵ درصد) تریپسین/ EDTA انکوبه شده و پس از مدت ۸-۱۰ دقیقه از سطح فلاسک جدا شدند . شمارش سلولها با رنگ آمیزی توسط دو رنگ تریپان بلو(Trypan Blue) و متیل گرین (Methyl Green) و با استفاده از لام توما(Thoma) انجام گرفت . جهت اندازه گیری درصد سلولهای زنده از خاصیت نفوذ رنگ تریپان بلو در سلولهای مرده استفاده شد. برای این کاراین رنگ به نسبت ۱ به ۹ به سلول ها اضافه گشته و در مدت کمتر از ۳ دقیقه، درصد سلولهای رنگ شده، یعنی سلولهای مرده، تعیین گردید. پس از این مرحله تعداد 10^6 سلول جهت تیمار در دماهای ٤١ ، ٤٣ و ٤٥ درجه سانتی گراد به لوله های سانتریفوژ منتقل شده و بمدت ′١٥ ، ′٣٠ ، ′٤٥ و ′٦٠ انکوباسیون و مجدداً درصد زنده ماندن سلولها محاسبه شد. سلولها پس از این مرحله به پلیتهای ۳۵mm منتقل و درون انکوباتور قرار گرفت.بررسی تأثیر شوک حرارتی طی یک دوره ۹٦ ساعته صورت گرفت، و مطالعه ٢٤ ، ٤٨، ٧٢ و٩٦ ساعت پس از شوک حرارتی انجام شد. در تمام موارد گزارش نتایج بعد از سه بار آزمایش است. آنالیزهای آماری با استفاده ازروش Student t-test انجام گرفت.

جهت بررسی تغییرالگوی بیان پروتئینهای سلولی در شرایط فوق، از الکتروفورز پروتئینها به روش discountinues استفاده شد. محیط رویی سلولها پس از جمع آوری روی ژل ۱۲ درصد اکریل آمید برده شد. برای این منظور محیط رویی با بافر نمونه (۵۰ mM تریس اسید، ۱۰۰ mM دی تیوتریتول، ۲ درصد سدیم دو دوسیل سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول و ۰/۱ درصد برموفنل بلو) مخلوط، و بمدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد، سپس نمونه ها در چاهکهای ژل فوقانی (۵

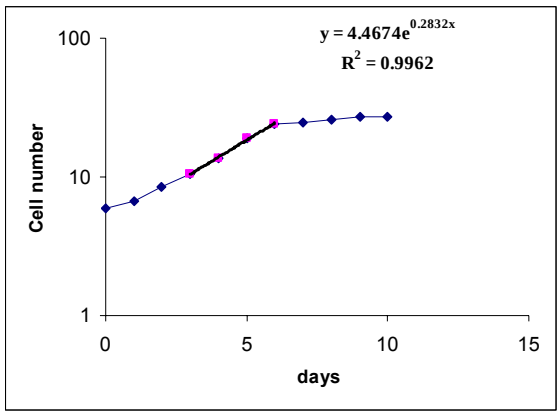
Archive of SID

www.SID.ir

درصد) تزریق و با برقراری میدان الکتریکی ۱٦۰ ولت در بافر بمدت ۲ ساعت الکتروفورز شد. پس از اتمام الکتروفورز، ژل با کوماسی بلو رنگ و توسط دستگاه UV-gel document عکسبرداری انجام گرفت.

نتایج

سلولهای کلون شده GH3/B6 درمحیط Ham's F12 تکمیل شده با سرم جنین گاو و سرم اسب رشد می کنند. . در این شرایط سلولها به سوبسترای خود یعنی شیشه یا پلاستیک می چسبند(۵). در شرایط طبیعی، زمان دو برابر شدن این سلولها بسته به شرایط آزمایشگاه و نیز کیفیت سرم دارد. در این شرایط سلولها در حدود ۸-٦ روز بشدت رشد کرده و سپس رشد شان کم می شود، اما هرگز به حالت سکون نمی رسند. در طی فازسکون سلولها به تقسیم شدن ادامه می دهند اما سلولهای حاصل وارد محیط شده و در آن شناور می شوند. با توجه به منحنی رشد این سلولها، زمان دو برابر شدن ۷۲ ساعت می باشد.



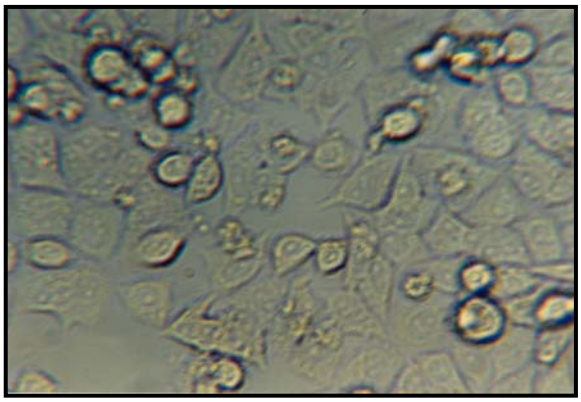
نمودار ۱: منحنی رشد سلولهای GH3/B6 در شرایط طبیعی حرارت (۳۷ درجه سانتی گراد) (cell number×1000)

Dt=Ln2/0.6467/0283

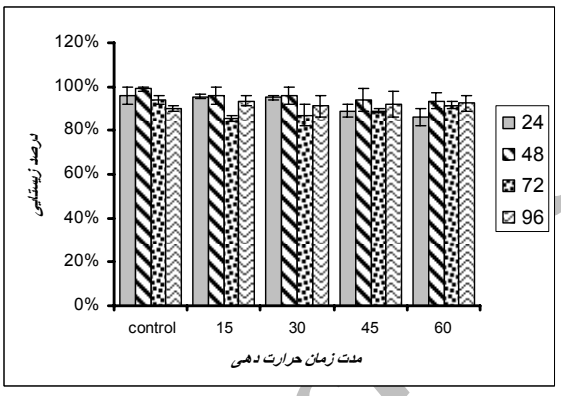
Dt=2.449 Day= 58.78hours

Dt زمان دوبرابر شدن سلولها (Doubling time) می باشد.

جهت بررسی تغییرات مورفولوژی سلولها، پس از شوک حرارتی از میکروسکوپ اینورت استفاده شد و در شرایط مختلف پس از تیمار حرارتی عکس برداری از سلولها صورت گرفت.



شکل۱: تصویر سلولهای $GH3/B_6$ بصورت تک لایه سلولی در محیط کشت که توسط میکروسکوپ اینورت با بزرگنمایی ۲۵X گرفته شده است. سلولها بصورت کشیده سطح فلاسک را پوشانده و سلولهای در حال تقسیم بصورت گرد و شناور(پیکانها) روی آنها دیده می شوند.



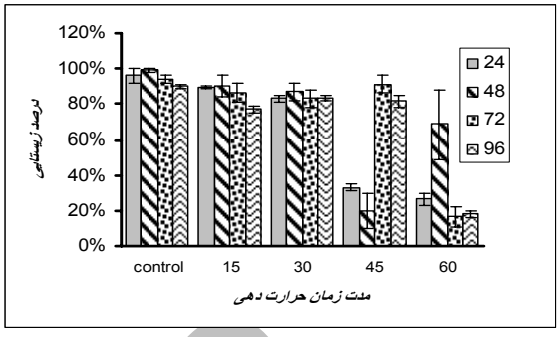
نمودار۲: درصد زیستایی سلولهای GH_3/B_6 پس از تیمار حرارتی در دمای ٤۱ درجه سانتی گراد. دمای گروه کنترل ۳۷ درجه سانتی گراد می باشد (n=3).

دمای ٤۱ درجه سانتی گراد برای سلولها قابل تحمل می باشد و حتی افزایش مدت انکوباسیون (٦۰ دقیقه) در این دما اثر قابل ملاحظه ای بر میزان بقا سلولها نمی گذارد.

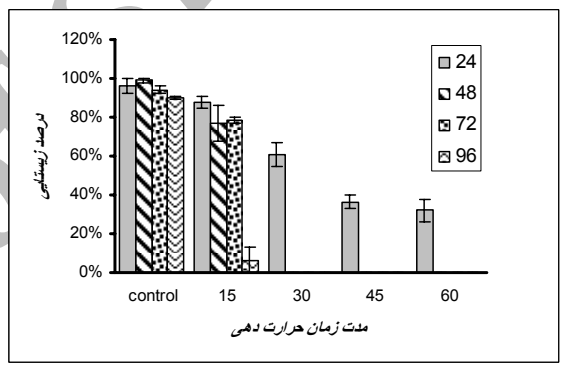
در دمای ٤۳ درجه سانتی گراد سلولها قادر به تحمل انکوباسیون ۱۵و ۳۰ دقیقه ای می باشند. نتایج در مورد ۲٤ ساعت پس از حرارت دهی در این دما بیانگر این است که انکوباسیون بمدت ٤۵ و ٦۰ دقیقه درصد زیستایی سلولها

Archive of SID
www.SID.ir

تفاوت معنی داری ($p<0.01$) نسبت به زمانهای ۱۵و ۳۰ دقیقه ای دارد.



نمودار۳: درصد زیستایی سلولهای GH_3/B_6 پس از تیمار حرارتی در دمای۴۳ درجه سانتی گراد. دمای گروه کنترل ۳۷ درجه سانتی گراد می باشد ($n=3$).



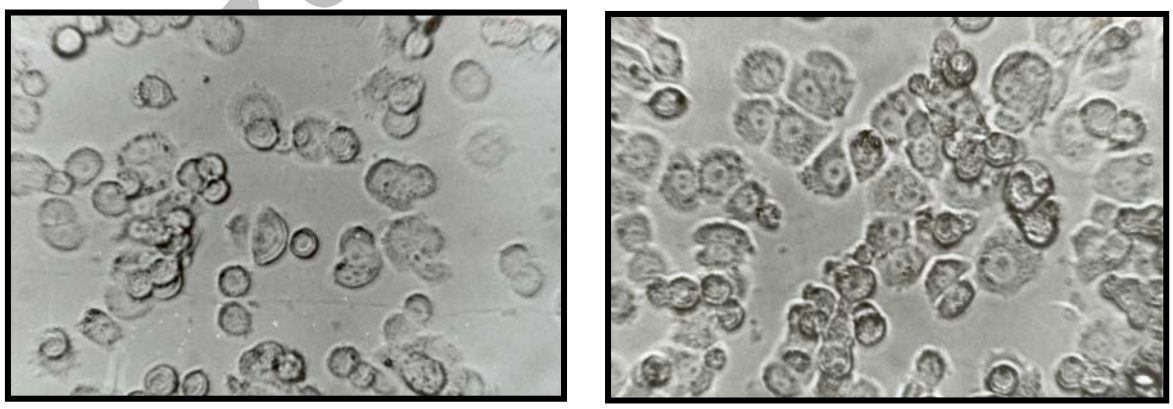
نمودار٤: درصد زیستایی سلولهای GH_3/B_6 پس از تیمار حرارتی در دمای ٤٥. درجه سانتی گراد دمای گروه کنترل ۳۷ درجه سانتی گراد می باشد ($n=3$).

سلولها در انکوباسیون ٤٥ درجه سانتی گراد تنها قادر به تحمل ۱۵ دقیقه ای این دما می باشند. افزایش زمان انکوباسیون با مرگ سلولها همراه است. بنابراین این سلولها انکوباسیون ۱۵ دقیقه ای در این دما را تحمل کرده، اما افزایش مدت زمان حرارت دهی در صد زیستایی سلولها را در مقایسه با شرایط طبیعی بطور معنی داری ($p<0.001$) کاهش می دهد.

از نظر شکل ظاهری در شرایط انکوباسیون ٤١ درجه سانتی گراد سلولها به کف فلاسک چسبیده و ظاهری مشابه سلولهای طبیعی دارند (شکل۲) .

شکل ۲: تصویر سلولهای GH_3/B_6 که بمدت ٦٠ دقیقه دردمای ٤١ درجه سانتی گراد انکوبه شده اند (بزرگنمایی ۲۵X).

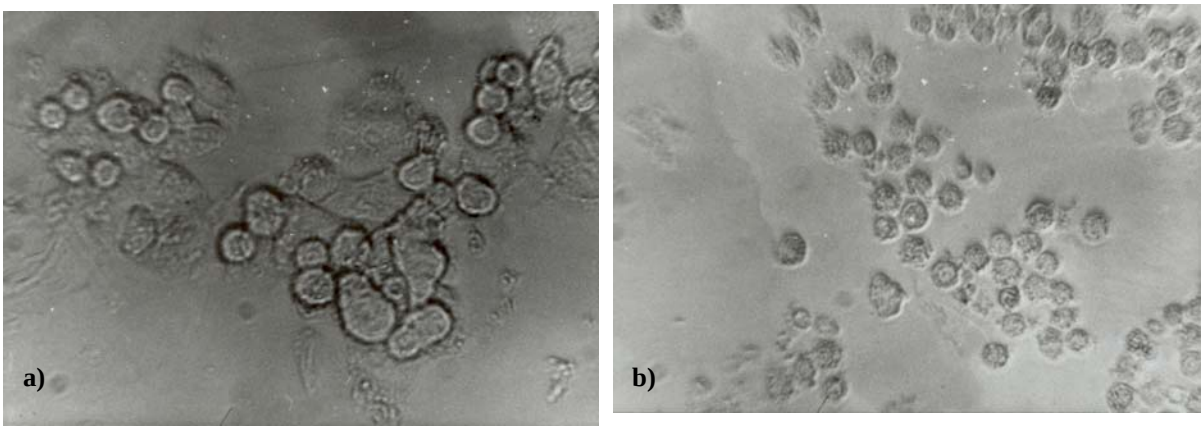
تیمار سلولها در دمای ٤٣ درجه سانتی گراد با تقسیم و ازدیاد سلولها بمدت ۳۰ دقیقه مغایرت ندارد، البته تحت این شرایط سلولها کشیدگی سلولهای طبیعی را ندارند (شکل ۳).



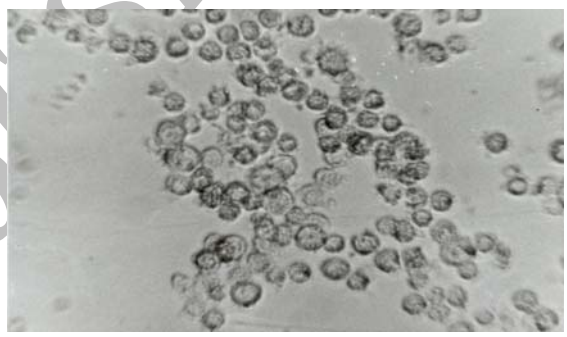
a) **b)**

شکل۳: a- تصویر سلولها ٤٨ ساعت پس از ۱۵دقیقه تیمار در دمای ٤٣ درجه سانتی گراد (بزرگنمایی ۲۵X).b- تصویر سلولها ۷۲ ساعت پس از تیمار ۱۵ دقیقه ای در دمای ٤٣ درجه سانتی گراد (بزرگنمایی ۲۵X).

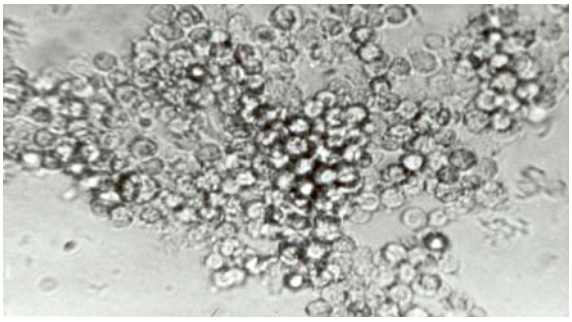
www.SID.ir



شکل۵: a- تصویر سلولها ٤٨ ساعت پس از تیمار ۱۵ دقیقه ای در دمای ٤٥ درجه سانتی گراد: تحت این شرایط درصد سلولهای زنده بالا بوده و این سلولها با چسبیدن به کف فلاسک شروع به تقسیم می کنند. b– سلولها را ٤٨ ساعت پس از تیمار ۳۰ دقیقه در دمای ٤٥ درجه سانتی گراد نشان می دهد در این تصویر سلولها کاملاً گرد شده اما درصد سلولهای زنده قابل توجه است (بزرگنمایی ۲۵X).



شکل٤: تصویر سلولها ٤٨ ساعت پس از تیمار ٤٥ دقیقه ای در دمای ٤۳ درجه سانتی گراد: سلولها گرد شده و چسبندگی اندکی را از خود نشان می دهند (بزرگنمایی ۲۵X).



شکل٦: سلولها ۷۲ ساعت پس از تیمار ۳۰دقیقه ای در دمای٤٥ درجه سانتی گراد درصد حیات ناچیزی را نشان داده و سلولهای مرده به صورت گرد و شناور تمام فلاسک را می پوشانند (بزرگنمایی ۲۵X).

تیمار سلولها در دمای ٤٥ درجه سانتی گراد سبب مرگ سلولی و شناورشدن سلولهای مرده در محیط می گردد.

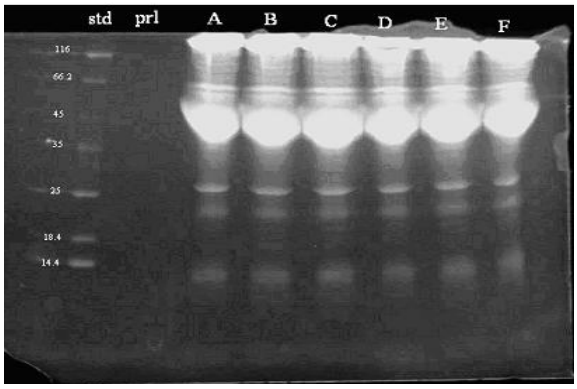
شکل۷: تغییرات بوجود آمده در غشا سلولهای GH_3/B_6 تحت تنش حرارتی ٤٥ درجه سانتی گراد.

جهت بررسی میزان بیان پروتئینهای سلولها بویژه پرولاکتین از روش الکتروفورز استفاده شد اما تفاوت قابل ملاحظه ای براساس الکتروفورز دراین مورد مشاهده نشد(شکل ۸).

بحث

حرارت بعنوان یک روش فیزیکی در درمان انواع سرطانها بکار می رود . حرارت بعنوان یک عامل سیستوتوکسیک سبب مرگ سلولهای سرطانی می گردد و همراه سایر روشهای سیستوتوکسیک، درمان سلولهای سرطانی را تقویت می نماید (۷).

Archive of SID
www.SID.ir



شکل۸: ژل الکتروفورز محیط رویی سلولها ۲٤ساعت پس از تیمار حرارتی در دماهای ٤٥ و ٤١ درجه سانتی گراد: همانطور که تصویر نشان می دهد.ستونهای A و B وC بترتیب مربوط به ۱۵، ٤٥ و ٦۰ دقیقه شوک حرارتی در دمای ٤١ درجه سانتی گراد می باشند. ستونهای D و E و F بترتیب مربوط به ۱۵، ٤٥ و ٦۰ دقیقه شوک حرارتی در دمای ٤٥ درجه سانتی گراد می باشند.

مطالعات نشان می دهند که دماهای بالاتر از ٤١ درجه سانتی گراد بطور انتخابی سبب مرگ سلول های سرطانی می گردد. بطوریکه محدوده دمای٤٥ – ٤١ درجه سانتی گراد سبب القا آپوپتوز در سلولهای سرطانی می گردد و دماهای بالاتر (٤٧ – ٤٦ درجه سانتی گراد) سبب نکروز یا مرگ سلولی می شود (۱۱) . همچنین حرارت با فعال کردن مکانیسمهایی در سلول سبب تغییر بیان گروهی از ژنها و مهار رشد سلولی می شود و بنابراین می تواند سبب قرار گرفتن سلولهای سرطانی در مسیرهای تمایز گردد (۲). از این جمله می توان به افزایش سنتز گروهی از پروتئینها تحت عنوان پروتئینهای شوک حرارتی اشاره نمود که نقش مهمی در کنترل و تنظیم فرآیند رشد و تمایز سلولی دارند (۱۱).

حساسیت بیشتر سلولهای سرطانی به تنشهای حرارتی در مقایسه با سلولهای طبیعی سلول، سبب استفاده از حرارت جهت تخریب سلولهای سرطانی گردید. البته فاکتورهایی نظیر مقدار دما، طول مدت حرارت دهی، نوع دودمان سلولی، شرایط تغذیه ای سلولها و نیزpH محیط در کاربرد حرارت بعنوان عامل مهاری سلولهای توموری نقش مهمی دارند (٦). درسلولهای توموری بدن دمای بالا ٤٢ درجه سانتی گراد سبب کاهش میزان جریان خون در این سلولها شده که بدنبال آن فقر مواد غذایی و کمبود اکسیژن سبب افزایش حساسیت سلولهای توموری به حرارت می گردد . همین دما در مورد سلولهای طبیعی سبب افزایش جریان خون می شود (۷ و ۱۳).

چرخه سلولی نیز در میزان حساسیت سلولها در برخورد تنشهای حرارتی مؤثر می باشد ، طوریکه بیشترین میزان حساسیت سلولها به حرارت در میتوز و فاز S از چرخه سلولی قابل مشاهده است(٦ و ۷).

سلولهای GH و زیر کلونهای آن عموماً برای مطالعه تنظیمات اندوکرینولوژی مورد استفاده قرار می گیرد (۱۵) . زیر کلون GH3/B6 حاصل شده از این سلولها، دو هورمون رشد وپرولاکتین را به نسبت ۱ به ۵ ترشح می کند. بررسیهای قبلی بر روی این سلولها اثر مواد گوناگون بر میزان ترشح این دو هورمون و بویژه هورمون پرولاکتین را مشخص نموده است (۵). در ازای تعداد مشخص سلول این دودمان قادر به ترشح مقادیر اندکی هورمون می باشد . در مورد سلولهای GH3 میزان رها سازی پرولاکتین در محیط ۱ تا ۲ ساعت بعد از کشت در محیط قابل مشاهده است(۵).

نتایج این بررسی در مورد سلولهای رشد کرده در شرایط معمول نشان می دهد که سلولها پس از ۷۲ ساعت دو برابر شده و سپس بدون اینکه وارد مرحله سکون شوند سلولهای تقسیم شده در محیط شناور می شوند. بررسی اثر شوک حرارتی بر این سلولها در دما ٤١ درجه سانتی گراد نشان می دهد که تغییرمعنی دار محسوسی برروی درصد زیستایی و چسبندگی سلولها مشاهده نمی شود. این مشاهدات مؤید این نکته می باشند که سلولهای GH3/B6، سلولهای نسبتاً مقاومی بوده و قادر به تحمل دمای ٤١ درجه سانتی گراد می باشند. البته این بمدت زمان انکوباسیون در این دما بستگی دارد، طوریکه انکوباسیون بمدت ۱ ساعت

Archive of SID
www.SID.ir

در این دما سبب کاهش نسبی چسبندگی سلولی و بدنبال آن رشد سلولی می گردد.

در دمای ٤٣ درجه سانتی گراد با توجه بمدت زمان انکوباسیون تفاوت معنی داری میان سلولهای طبیعی و سلولهای انکوبه شده بمدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه در این دما مشاهده نگردید. افزایش مدت زمان انکوباسیون سبب بروز رفتار متفاوتی در سلولها می شود. در انکوباسیون ٤٥ دقیقه ای بنظر می رسد که پس از ۷۲ ساعت سلولها مستعد تحمل شرایط تنشی شده و به دنبال کاهش درصد زیستایی در این زمان، مجدداً رشد سلولها از آغاز می گردد. این مطلب در مورد انکوباسیون ٦۰ دقیقه ای در این دما صادق نمی باشد. بررسی مورفولوژیکی سلولها تحت این شرایط بیانگر تغییراتی در غشاء و ظاهر شدن وزیکولهایی در سیتوپلاسم می باشد. این وزیکولها معمولاً در صورت نامناسب بودن شرایط محیطی در این سلولها حاصل می گردند (۵).

در دمای ٤٥ درجه سانتی گراد، سلولها ٤٨ ساعت پس از دریافت تنش کاهش شدیدی را در درصد زیستایی خود نشان می دهند ، بنظر می رسد انکوباسیون ۱۵دقیقه ای در این دما برای سلولها قابل تحمل است ولی پس از آن سلولها بتدریج می میرند طوریکه در روز سوم پس از شوک حرارتی سلول زنده ای مشاهده نمی گردد و سلولهای مرده به صورت گرد در محیط شناور می باشند . در انکوباسیون ۱۵ دقیقه ای در این دما با وجود تحمل تنش توسط سلولها ، تغییرات مورفولوژیکی قابل ملاحظه ای نیز از خود بروز نمی دهند و تنها حالت کشیده سلولهای طبیعی را نشان نمی دهند اما بصورت گرد به سطح فلاسک چسبیده وتکثیر می شوند.

احتمالاً مرگ سلولها، عدم چسبندگی و تغییرات مرفولوژیکی ظاهر شده در سلولها نتیجه تغییر در بیان یک سری پروتئینها از جمله پروتئینهای سیتواسکلتی میکروفیلامنتها و میکروتوبولها می باشد . طوریکه حرارت سبب القا تشکیل دستجات اکتین درهسته می گردد . بصورت in vitro مشخص شده است که دمای بالا سبب تخریب ساختار میکروتوبولها و القا تغییرات در پلیمریزاسیون آنها می گردد . این تغییرات با اثر بر روی تشکیلات دوک میتوزی سبب اختلال در تقسیم سلول می شود (۱۰). در واقع مکانسیم مرگ سلولی القا شده بوسیله حرارت بسیار پیچیده است و آسیب به غشای پلاسمایی هسته و سایر اجزاء سیتوپلاسم را در بر می گیرد . حرارت سبب تغییر ساختار پروتئینهای غشایی ، پتانسیل غشاء و نیز اختلال در عملکرد گیرنده های غشایی می گردد (۷). بعلاوه غشاهای درون سلولی از جمله غشای شبکه اندوپلاسمی و غشای لیزوزومی نیز تحت تأثیر قرار می گیرند . آسیب به غشای لیزوزومی می تواند یکی از علل مرگ سلول در اثر حرارت باشد (۱۰). برای نتیجه گیری دقیق تر اثر شوک حرارتی می توان از خصوصیات دیگر سلول نظیر میزان سنتز DNA ، میزان ترشح پروتئین و میزان بیان hsp و انواع آنها را در این سلولها مورد بررسی قرار داد .

در این بررسی جهت مشاهده الگوی بیان پروتئینهای سلولی نظیر پروتئینهای شوک حرارتی و نیز احتمال تغییر در میزان ترشح پرولاکتین در این سلولها از الکتروفورز عمودی استفاده شد که بعلت حضور مقادیر بالای پروتئینهای سرم در محیط امکان مشاهده این تغییرات فراهم نشد . بنابراین نیاز به استفاده از روشهای اختصاصی با حساسیت بالا و آنتی بادیهای تخصصی وجود دارد که با توجه به عدم دسترسی به موارد فوق ادامه بررسیها در این زمینه به پژوهشهای آتی موکول گردید .

در مجموع با توجه به نتایج حاصل از این مشاهده و نیز با توجه بوجود مطالعه مشابه این بررسی می توان گفت که حرارتهای ملایم (٤١ و ٤٣ درجه سانتی گراد) هیچ گونه تأثیری بر درصد سلولهای زنده ندارند اما حرارت دهی شدید ٤٥ درجه سانتی گراد در زمانهای بیش از ۱۵ دقیقه با

Archive of SID
www.SID.ir

اثر بر روی درصد سلولهای زنده سبب کاهش تعداد سلولهای زنده می شود که می توان از آن جهت درمان تومورهای هیپوفیزی در کنار سایر روشهای درمانی موجود استفاده کرد .

منابع

۱ – سپهری ح ، رسولی ی ، صالحی س (۱۳۸۱). *ویژگیهای سلولهای کلون شده پرولاکتین GH_3/B_6 در شرایط invitro* . مجله علوم دانشگاه تهران، جلد ۲۸، شماره ۲: ۱۹۱–۱۸۳.

2. Cellier M.F.M. , Taimi M. ,Chateau M.T., Cannat A. and Marti J. (1993) *Thermal stress as an inducer of differentiation of U973 cells.* Leukemia Research; 17 (8): 649-656
3. Dong Lu X., Liu P.L.C., Santoro N. and Thiele D.J. (1997). *Conservation of stress response: human shock transcription factors functionally substitute for HSF*. The EMBO Journal 16(21): 6466-6477.
4. Goliaei B., Deizadji A. (1998). *Effects of hyperthermia and GM-C SF on the differentiation of human leukemic cell line U_{937}.* Leukemia Research 22: 705-710.
5. Gourdji D., Tougard C., Tixier – Vidal A. (1982). *Clonal Prolactin Strains as a tool in neuroendocrinology* .Frontiers in Neuroendocrinology; 7: 317-357.
6. Hall E.J. (1994). *Radiobiology for radiobologists.* Chapter 16. Hyperthermia; 257. (J.B.Lippincott Company).
7. Hildebrandt B., Wust P., Ahlers O., Dieing A., Sreenivasa G., Kerner T., Felixer R. and Riess H. (2002). *The cellular and molecular basis of hyperethermia*. Oncol. Hematol; 43: 33-56
8. Holubarova A., Muller P.; Svoboda A. (2000). *A response of yeast cells to heat stress: Cells viability and the stability of cytoskeletal structurs.* Scripta medica 73(6): 381-392.
9. Koteiche H.A., Mchaourab H.S. (2003). *Mechnism of Chaperone function in small heat shockproteins.* Journal of Biological chemistry; 278(12): 10361-10367.
10. Laszlo A. (1992). *The effect of hyperthermia on mammalian cell structure and function.* Cell Proliferation; 25: 59-87
11. Pantazis P., Chatterjee D., Han Z. and Wyche J. (1999*). Modulation of 9-nitrocomptotecin induced apoptosis by hyperthermia in human leukemia HL-60 cells.* Anticancer Drugs; 10: 317-332
12. Prescott D.M. (1988). *Cells*:Principles of molecular structure and function. John and barlett publishers, Boston, MA USA.
13. Steel G.G. Overgaard J. and Horsman M.R. (1993). Hyperthermia. Basic clinical radiobiology. Edward Arnold Publishers. London; 173-194.
14. Takemoto. H, Yokoro. K, Furth. J, Cohen. A.T. (1982). *Adenotopic activity of mammosomatotropin tumors in rats and mice.* Cancer Research 22: 917-925.
15. Tashjian. A. H, Bancroft. F. C, Levine. L. (1970). *Production of both prolactin and growth hormone by clonal strains of rat pituitary cells.* Journal of Cell Biology 47: 61-70.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of Thermal Stress on GH3/B6 cell line

Rassouli Y., Delphi L., Daneshvar K., and Sepehri H.

Faculty of Biology, University College of Sciences, Tehran University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

In the present study, the effect of hyperthermia on *GH3\B6* cells has been investigated. These cells are derived from rat anterior-pituitary tumor cells with the ability of Prolactin secretion. They are used as endocrinology tools and some previous studies were done on different secretion conditions in these cells. Thermal effect, in a controlled condition makes some morphological changes in these cells. These changes depend on the period of heat shock and also its amplitude. It was seen that cells can tolerate 41°C well, but higher temperature made changes in cells' attachment, morphology and viability.

Key words: GH3/B6 cells, Hyperthermia, Viability

Archive of SID

www.SID.ir