مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / پاییز ۱۳۸۶ / دوره ۹ / شماره ۳ (پی‌درپی ۲۳) / صفحات ۱۵ تا ۲۱

تحقیقی

اثر دیکلوفناک بر تکثیر و تمایز سلول‌های PC12 در محیط کشت

سعید رجبعلیان
فوق لیسانس بیولوژی سلولی و مولکولی
پژوهشگر مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان
دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دکتر منظومه شمسی میمندی
دکترای داروسازی و عضو هیأت علمی گروه فیزیولوژی
دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دکتر شهریار دبیری
استادیار گروه آسیب‌شناسی دانشکده پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی کرمان

رفعت حسینی
کارشناس میکروب‌شناسی
مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان
دانشگاه علوم پزشکی کرمان

نویسنده مسؤول : سعید رجبعلیان
پست الکترونیکی : srajabalian@yahoo.com
نشانی : کرمان، بلوار جمهوری، معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان، مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان
تلفن : ۰۳۴۱-۲۱۲۰۵۴۶
نمابر : ۲۱۱۱۰۱۰

وصول مقاله : ۸۵/۸/۱
اصلاح نهایی : ۸۶/۸/۱۹
پذیرش مقاله : ۸۶/۸/۲۲

چکیده

زمینه و هدف : *دیکلوفناک از گروه داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی است که برای کاهش درد و التهاب تجویز می‌شود. اطلاعات اندکی در مورد اثر دیکلوفناک بر سلول‌های عصبی موجود است. این مطالعه به منظور بررسی اثرات دیکلوفناک سدیم بر تکثیر و تمایز سلول‌های PC12 در محیط کشت انجام شد.*

روش بررسی: *این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۳ در مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان انجام شد. تکثیر سلول در دو محیط کشت بدون سرم Neurobasal تکمیل شده با مکمل B27 و محیط کشت DMEM/F12 دارای ۱۰درصد FBS با روش XTT-assay سنجش شد. تمایز سلولی القاء شده به وسیله عامل رشد عصب (NGF) با اندازه‌گیری طول نوریت‌های سلول بررسی شد.*

یافته‌ها : *سمیت دارو در محیط کشت Neurobasal تکمیل شده با مکمل B27 در رقت‌های بالاتر از ۳۱۰ میکرومول مشاهده شد. سمیت در محیط کشت DMEM/F12 افزایش یافت، به ترتیبی که در رقت‌های ۱۵۵ و ۳۱۰ میکرومول رشد سلول ۴۰ و ۸۵ درصد کاهش یافت (P<۰/۰۵). ژنریک‌های مختلف دارو سمیت برابری بر سلول‌های PC12 اعمال کردند. تمایز سلول PC12 القاء شده با NGF در رقت‌های توکسیک دارو نیز کاهش یا افزایش نیافت.*

نتیجه‌گیری: *نتایج این مطالعه دلیل سمیت دیکلوفناک بر سلول‌های عصبی را از طریق تداخل در رشد سلولی و نه تمایز سلولی معرفی می‌کند. تفاوت سمیت سلولی دیکلوفناک در دو محیط کشت، با توجه به این که مکمل B27 دارای چندین ترکیب آنتی‌اکسیدان است، استرس اکسیداتیو را به عنوان یکی از مکانیسم‌های سمیت دارو پیشنهاد می‌کند.*

کلید واژه‌ها: *سمیت‌سلولی ، دیکلوفناک ، تمایز سلول عصبی ، PC12 ، عامل رشد عصب*

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDS) به صورت گسترده‌ای برای کاهش درد، تب و التهاب در بیماران آرتریت، استئوآرتریت، روماتوئید آرتریت و درد عضلانی حاد تجویز می‌شوند. دیکلوفناک یکی از NSAIDS، ترکیب لیپوفیل با دو حلقه آروماتیک است و به صورت عمده به آلبومین پلاسما متصل می‌شود. اثرات درمانی دارو از طریق مهار فعالیت آنزیم سیکلواکسیژناز و توقف سنتز پروستاگلندین‌ها اعمال می‌شود. دارو در کبد به وسیله سیتوکروم P450 به متابولیتهای ´۴- هیدروکسی دیکلوفناک و ۵-هیدروکسی دیکلوفناک متابولیزه می‌شود (۴-۱). موارد متعددی از اثرات سوء دارو بر بافت عضله، کبد، دستگاه گوارش و سیستم عصبی مرکزی افراد مصرف کننده گزارش شده است (۷-۵). همچنین افزایش خطر سکته قلبی در افرادی که داروی دیکلوفناک را به مدت طولانی مصرف می‌کنند، گزارش شده است (۸). Sen و همکاران اثرات سوء دیکلوفناک را بر ترمیم بافت استخوان گزارش کردند (۹). اثرات سوء دیکلوفناک بیشتر در زن‌ها و افراد مسن دیده شده است (۱۰و۱۱). دارو با افزایش نفوذپذیری غیرانتخابی غشاء داخلی میتوکندری و به دنبال آن افزایش فعالیت آنزیم‌های کاسپاز خودکشی سلولی را در کشت هپاتوسیت‌ها باعث شده است (۱۲و۱۳). همچنین، استرس اکسیداتیو در نتیجه متابولیسم اکسیداتیو دارو و قطعه قطعه شدن DNA در بافت کلیه موش صحرایی گزارش شده است (۱۴). Yamazaki و همکارانش اثر شماری از NSADas را بر رشد و آپوپتوز سلول‌های سینوویال بررسی کردند. دیکلوفناک در مطالعه این گروه بیشترین سمیت را در بین NSADs داشت (۱۵).

شکل تزریق داخل عضلانی دیکلوفناک در داخل کشور مصرف گسترده‌ای داشته و تنها بیش از ۸۵ میلیون آمپول دیکلوفناک در سال ۱۹۹۸ میلادی مصرف شده است. همچنین ۱۷۶ مورد عوارض جانبی ناشی از تزریق داخل عضلانی دارو شامل فلج پا و نکروز بین سال‌های ۱۹۹۶ تا ۲۰۰۲ میلادی به مرکز مراقبت‌های دارویی کشور گزارش شده است (۱۶). علی‌رغم مطالعه اثرات سوء دیکلوفناک بر کبد، کلیه و دستگاه گوارش، دانش کنونی ما در مورد اثر این دارو بر بافت‌های عصبی اندک است. بنابراین مطالعه میزان سمیت دارو بر سلول‌های عصبی اهمیت می‌یابد.

ردهٔ سلولی PC12 جدا شده از فئوکروموسایتومای موش صحرایی در محیط کشت ویژگی‌های سلول عصبی را بروز می‌دهد. تمایز سلول‌های PC12 در پاسخ به NGF با گسترش نوریت‌های سلولی نمایان می‌شود (۱۷). در تحقیق حاضر سمیت سلولی داروهای دیکلوفناک تولید شرکت‌های داروسازی ابوریحان، داروپخش، Voltaren و کمپانی Sigma بر رده سلولی PC12 سنجش و مقایسه شد. همچنین اثر دیکلوفناک داروپخش و Sigma بر روند تمایز سلول‌های PC12 ناشی از NGF با توجه به میانگین بلندترین طول نوریت‌های سلولی بررسی و مقایسه شد.

روش بررسی

داروها و مواد : این مطالعه تجربی طی سال ۱۳۸۳ در مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان انجام شد. فورمولاسیون‌های داخل عضلانی دیکلوفناک ساخت شرکت‌های داروسازی Voltaren، ابوریحان و داروپخش از داروخانه خریداری شد. دارو در ویال‌های ۷۵ میلی‌گرمی با دوز ۲-۱میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن تجویز می‌شود. گرید خالص شیمیایی دارو از کمپانی Sigma خریداری شد و در اتانول مطلق حل گردید. عامل رشد عصب (NGF)، تریپسین، محیط کشت DMEM-F12 از کمپانی Sigma-Aldrich خریداری شدند. محیط کشت Neurobasal ، B27 Supplement ، سرم جنین گاو (FBS) از کمپانی Gibco-BRL-UK خریداری شد. کیت سنجش تکثیر سلول XTT از کمپانی Roch آلمان، فلاسک‌ها، پلیت‌های ۹۶ حفره‌ای کشت سلول و لوله‌های سانتریفوژ از کمپانی‌های Falcon و NUNC خریداری شدند. ردهٔ سلولی PC12 از بانک سلولی ایران خریداری شد.

کشت سلول : سلول‌های PC12 در محیط کشت DMEM-F12 بدون فنول رد تکمیل شده با ۱۰درصد (FBS)، ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استرپتومایسین و ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین (محیط کشت کامل) در اتمسفر مرطوب ۵درصد CO_2، ۹۵درصد هوا و ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. محیط کشت هر ۳ روز یک‌بار تعویض گردید و واکشت سلول‌ها هر هفته یک مرتبه انجام شد.

Archive of SID
www.SID.ir

سنجش سمیت سلولی داروها : سمیت سلولی داروها در محیط کشت بدون سرم Neurobasal تکمیل شده با مکمل B27 و محیط کشت کامل DMEM-F12 با روش XTT assay سنجش شد. بدین ترتیب که ابتدا سوسپانسیون‌های سلولی معادل صدهزار سلولی در میلی‌لیتر در محیط‌های کشت تهیه شد. ده هزار سلول در حجم یکصد میکرولیتر از هر سوسپانسیون به هر چاهک پلیت ۹۶ حفره‌ای ریخته شد. سپس رقت‌های مختلف داروها در محیط‌های کشت تهیه شد. ۵۰ میکرولیتر از هر رقت دارو به شش چاهک افزوده شد. به ترتیبی که رقت نهایی دارو در ۱، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰و ۳۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تنظیم گردید. شش چاهک شامل سلول و محیط کشت به عنوان کنترل رشد سلول در نظر گرفته شد. پلیت‌ها در شرایط استاندارد به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند. رشد و تکثیر سلول در پایان زمان انکوباسیون، طبق دستورالعمل کارخانه سازنده کیت سنجش تکثیر سلول بر پایه کرموژن XTT سنجش شد(۱۸). بدین ترتیب که ابتدا ترکیب جفت کننده الکترون تحت نام PMS با کرموژن XTT موجود در کیت مخلوط شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از مخلوط به هر یک از چاهک‌ها افزوده شد و پلیت به مدت یک ساعت دیگر انکوبه گردید. در پایان شدت رنگ تشکیل شده در چاهک‌ها به وسیله دستگاه Eliza reader در طول موج ۴۹۲ نانومتر ثبت شد. تمامی مراحل ۵ مرتبه در فواصل زمانی مختلف تکرار شد. درصد رشد و تکثیر سلول (درصد سلول‌های زنده) در هر رقت دارو با استفاده از رابطه زیر تعیین شد:

$$\frac{\text{شدت جذب بلانک - شدت جذب در حضور دارو}}{\text{شدت جذب بلانک - شدت جذب کنترل}} \times ۱۰۰$$

ارزیابی اثر دیکلوفناک بر تمایز سلولی PC12 : تمایز سلول PC12 با افزودن ۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر NGF به محیط کشت به صورت گسترش نوریت‌های سلولی پدیدار می‌شود. در حالی که سلول در محیط کشت کامل بدون افزودن NGF خارجی تمایز نیافته باقی می‌ماند (۱۹). به منظور مطالعه اثر دیکلوفناک بر تمایز سلول PC12 ناشی از NGF، سوسپانسیون سلولی معادل ۵۰۰۰۰ سلول در میلی‌لیتر در محیط کشت کامل DMEM-F12 تهیه شد. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون در پلیت‌های ۳۵ میلی‌متری به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. پس از پایان انکوباسیون و تخلیه محیط کشت، سلول‌ها در ۱/۵ میلی‌لیتر محیط کشت کامل حاوی ۱۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر دیکلوفناک (Sigma و داروپخش) و ۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر NGF به مدت ۷۲ ساعت دیگر انکوبه شدند. کشت سلول در محیط کامل حاوی ۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر NGF نیز منظور شد. محیط کشت پلیت‌ها پس از پایان انکوباسیون با محیط کشت کامل حاوی ۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر NGF تعویض شد و انکوباسیون به مدت ۴۸ ساعت دیگر ادامه یافت. پاسخ به NGF در پایان با اندازه‌گیری بلندترین طول نوریت‌های ۲۰۰ سلول در دو پلیت همسان در میدان‌های دید مختلف میکروسکوپ اینورت به صورت تصادفی با بزرگ‌نمایی ۲۵۰ برابر به وسیله قطعه چشمی مدرج بررسی شد.

پردازش آماری داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه (One- Way ANOVA) و مقایسه چندگانه با آزمون Tukey HSD انجام شد.

یافته‌ها

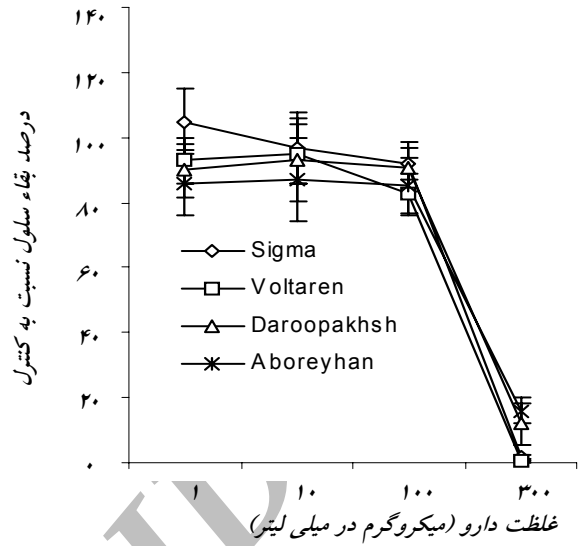
سمیت سلولی داروهای ساخت شرکت‌های داروسازی ابوریحان، داروپخش، Voltaren و گرید شیمیایی کمپانی Sigma بر رشد و تکثیر سلول‌های PC12 سنجش و مقایسه شد. به دنبال مجاورت با رقت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر داروها در محیط کشت Neurobasal تکمیل شده، تغییری در رشد و تکثیر سلولی در مقایسه با کشت کنترل مشاهده نشد (نمودار ۱).

به دنبال مجاورت با ۳۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر دیکلوفناک ساخت Sigma و Voltaren کاهش رشد بیش از ۹۸درصد و داروهای ابوریحان و داروپخش به ترتیب کاهش رشد معادل ۸۸ درصد و ۸۴درصد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). آنالیز آماری تفاوتی بین سمیت ژنریک‌های مختلف دیکلوفناک نشان نداد. سمیت دیکلوفناک (Sigma) در محیط کشت DMEM/F12 افزایش یافت. به ترتیبی که در رقت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر رشد سلول ۴۰ درصد و ۸۵ درصد کاهش یافت ($P<۰/۰۵$،

Archive of SID

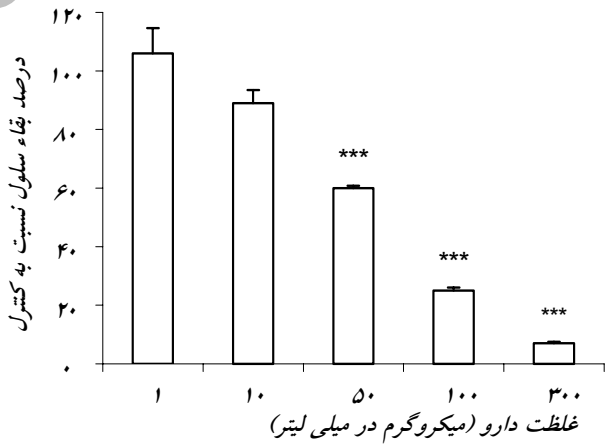
www.SID.ir

نمودار ۲).



نمودار ۱: اثر دیکلوفناک بر رشد سلول‌های PC12 در محیط کشت تکمیل شده Neurobasal

سلول‌ها با رقت‌های مختلف ژنریک‌های دیکلوفناک در محیط کشت تکمیل شده Neurobasal به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند. در پایان رشد سلول با روش سنجش کروموژن XTT تعیین شد. داده‌ها به صورت mean±SD ارایه شده‌اند.

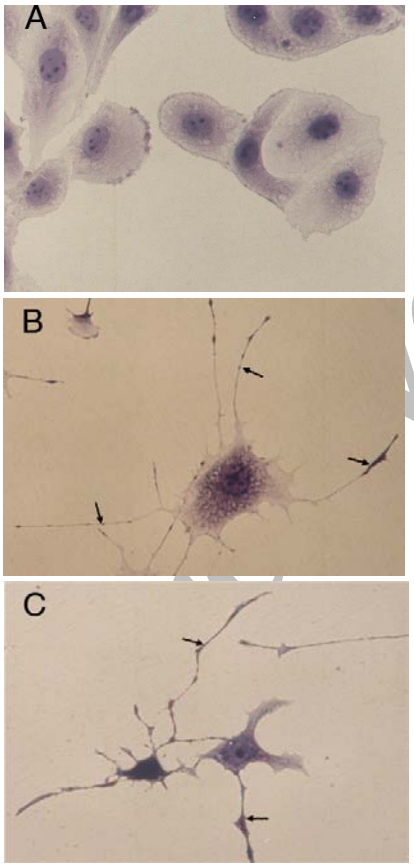


نمودار ۲ : اثر دیکلوفناک بر رشد سلول‌های PC12 در محیط کشت کامل DMEM/F12

*سلول‌ها با رقت‌های مختلف دیکلوفناک (Sigma) در محیط کشت DMEM/F12 غنی شده با ۱۰درصد FBS به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند. رشد سلول در پایان با روش سنجش کروموژن XTT تعیین شد. داده‌ها به صورت mean±SD ارایه شده‌اند (***=P<۰/۰۰۱).*

تأثیر دیکلوفناک ساخت شرکت داروسازی داروپخش و گرید شیمیایی ساخت کمپانی سیگما بر تمایز سلول PC12 ناشی از NGF بررسی شد. بدین منظور کشت‌های سلول در حضور غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر داروها و NGF انکوبه شدند. سپس تمایز سلول با توجه به میانگین بلندترین طول نوریت‌های سلول بررسی شد.

میانگین بلندترین طول نوریت‌های سلول در غلظت ۱۰ و ۱۰۰ میکرگرم در میلی‌لیتر دیکلوفناک داروپخش به ترتیب ۴۹±۱۶۶ و ۴۲±۱۳۴ میکرومتر، دیکلوفناک سیگما ۶۹±۱۶۰ و ۶۸±۱۶۵ میکرومتر و در محیط کشت کنترل ۵۲±۱۵۲ میکرومتر اندازه‌گیری شد. دیکلوفناک با توجه به نتایج کسب شده، در رقت‌های سمی نیز قادر به افزایش یا کاهش تمایز سلول PC12 ناشی از NGF نبود (تصویر ۱). آنالیز آماری تفاوتی بین دیکلوفناک‌های سیگما و داروپخش نشان نداد.



تصویر ۱: اثرات دیکلوفناک برتمایزسلولی‌ناشی‌ازNGFدرمحیط‌کشت سلول‌های PC12 در حضور و عدم حضور دیکلوفناک در محیط کشت DMEM/F12 حاوی NGF به ترتیبی که در بخش مواد و روش‌ها توضیح داده شد، انکوبه شدند. نوک پیکان گسترش نوریت‌های سلولی را نشان می‌دهد.

A) کشت کنترل بدون NGF، B) محیط کشت حاوی NGF C) محیط‌کشت حاوی NGF و ۱۰۰ میکروگرم درمیلی‌لیتر دیکلوفناک رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین، بزرگ‌نمایی ۲۰۰ برابر

www.SID.ir

بحث

رده سلولی PC12 برخی از ویژگی‌های سلول‌های عصبی را در محیط کشت نشان می‌دهد و در مطالعات متعددی به عنوان مدل سلول عصبی استفاده شده است (۱۷). بنابراین در مطالعه حاضر سلول PC12 برای بررسی اثرات نوروتوکسیک دیکلوفناک انتخاب شد. سمیت دیکلوفناک بر سلول‌های PC12 در محیط کشت Neurobasal تکمیل شده در رقت‌های بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (معادل ۳۱۰ میکرومول) و در محیط کشت کامل DMEM/F12 در رقت بالاتر از ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اعمال شد. دارو در رقت‌های سمی نیز تمایز سلولی ناشی از NGF را کاهش یا افزایش نداد.

دیکلوفناک پرمصرف‌ترین عضو خانواده NSAIDS است. شواهد متعدد متابولیت‌های فعال دارو، استرس اکسیداتیو، تداخل در عملکرد میتوکندری، کاهش ATP و در نهایت مرگ برنامه‌ریزی شده سلول را دلایل سمیت دیکلوفناک معرفی می‌کند (۱۵و۲۱-۱۲). Kudo و همکارانش اثر Naproxen، (S)-ibuprofen Indomethacin، آسپیرین و دیکلوفناک را بر رشد و تمایز سلول‌های بنیادی عصبی موش بررسی کردند (۲۲). دیکلوفناک در مطالعه فوق رشد و تمایز سلولی را در رقت ۱۰μM مهار کرد. در حالی که بقیه داروها رشد سلول را افزایش دادند. کاهش سمیت دارو در مطالعه ما نسبت به نتایج این گروه با توجه به تفاوت نوع سلول و محیط کشت قابل بحث است. این گروه از سلول‌های بنیادی عصبی موش و محیط کشت DMEM/F12 تکمیل شده با انسولین، ترانس‌فرین، پروژسترون، سلنیت سدیم، عامل رشد اپیدرمی و عامل رشد فیبروبلاست بازی استفاده کردند. در حالی که در مطالعه جاری از سلول PC12 و دو محیط کشت Neurobasal تکمیل شده با مکمل B27 و DMEM/F12 تکمیل شده با ۱۰درصد FBS استفاده شد.

تحقیقات ایجاد رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو را از دلایل سمیت دیکلوفناک دانسته‌اند (۱۵و۲۱-۱۲).

مکمل B27 حاوی مجموعه ترکیبات آنتی‌اکسیدان، ویتامین E، vitamin E acetate، superoxid dismutase، catalase و glutathione می‌باشد (۲۳) و بنابراین کاهش سمیت دارو در حضور آنتی‌اکسیدان‌های مکمل B27 محتمل است. افزایش سمیت در محیط کشت DMEM/F12 علی‌رغم غنی‌کردن محیط با سرم جنینی، به احتمال فوق قوت می‌بخشد. نتایج ما با مطالعات قبلی که ایجاد رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو را از دلایل سمیت دارو دانسته و کاهش سمیت دارو را در حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیر ویتامین E و سوپراکسید دیسموتاز گزارش کرده‌اند، هماهنگ است (۱۲و۱۳و۲۰و۲۱). همچنین در همین ارتباط، Berenguer و همکارانش اثرات محافظتی عصاری گیاهی با نام شاه‌پسند قرمز را بر ضایعات ایجاد شده به وسیله دیکلوفناک در دستگاه گوارش موش صحرایی با خواص آنتی‌اکسیداتیو عصاره گیاه و افزایش آنزیم‌های glutathione peroxidase و superoxide dismoutase مرتبط گزارش کرده‌اند (۲۴).

ژنریک‌های مختلف دیکلوفناک در مطالعه ما سمیت یکسانی از نظر آماری بر سلول‌های PC12 نشان دادند. مطالعات متعددی برای شناسایی دلایل سمیت شدید دارو در افراد خاص انجام شده است. دیکلوفناک توسط آنزیم‌های میکروزومی سیتوکروم P450 به متابولیت‌هایی که بعضاً سمیت بالایی نیز دارند، تبدیل می‌شود (۴). محققین سمیت دارو را با نحوه فعالیت کمی و کیفی آنزیم‌های سیتوکروم P و متابولیت‌های تولید شده در ارتباط می‌دانند (۴و۲۵و۲۶). فنوباربیتال فعال‌کننده قوی آنزیم سیتوکروم P3A است. Wang و همکارانش نشان دادند که فنوباربیتال همزمان با افزایش متابولیزاسیون دیکلوفناک سمیت دارو را نیز در کشت سلول‌های هپاتوسیت افزایش می‌دهد (۲۷). یافته‌های این گروه احتمال افزایش سمیت دیکلوفناک در صورت مصرف همزمان با موادی که فعالیت آنزیم‌های سیتوکروم P را افزایش می‌دهند، مطرح کرده است. اتصال متابولیت‌های دارو به پروتئین‌های سلولی در نهایت به اختلال در عملکرد مسیرهای فیزیولوژیک سلول منتهی می‌شود (۲۸و۲۹). گلوتاتیون بخشی از سیستم سم‌زدایی سلول است که با اتصال به متابولیت‌های دارو نقش مهمی در حفاظت از تشکیلات مولکولی سلول به عهده دارد (۲۵). بنابراین در مطالعه حاضر گلوتاتیون موجود در مکمل B27 به عنوان یکی از دلایل اختلاف سمیت دارو در دو محیط کشت مطرح شده و در همین ارتباط، نقش

Archive of SID

www.SID.ir

متابولیت‌های دیکلوفناک در سمیت دارو حداقل در مدل سلولی PC12 اهمیت می‌یابد.

تمایز سلول‌های PC12 در رقت‌های سمی دارو نیز متاثر نشد. بدین ترتیب که میانگین طول نوریت‌های سلولی در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر دارو مشابه با کشت کنترل بود، در حالی که در این غلظت از دارو، آزمون XTT ۸۵ درصد کاهش رشد سلول را نشان می‌داد. بنابراین نتایج سمیت دارو بر سلول‌های عصبی را به صورت عمده از طریق تداخل در رشد و نه تمایز سلول معرفی می‌کند.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه دلیل سمیت دیکلوفناک بر سلول‌های عصبی را به صورت عمده از طریق تداخل در رشد سلولی و نه تمایز سلولی معرفی کرده و استرس اکسیداتیو را به عنوان یکی از مکانیسم‌های سمیت دارو پیشنهاد می‌کند.

پتانسیل آنتی‌اکسیداتیو و توان سم‌زدایی بافت احتمالاً در سمیت دیکلوفناک نقش دارد.

تشکر و قدردانی

نتایج حاصل از این مطالعه مربوط به طرح پژوهشی شماره ع/۱۹-۸۰ مصوب مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان بود. بدین‌وسیله از آن مرکز پژوهشی تشکر می‌شود.

References

1) Sallmann AR. The history of diclofenac. *Am J Med.* 1986 28; 80(4B):29-33.

2) Laneuville O, Breuer DK, Dewitt DL, Hla T, Funk CD, Smith WL. Differential inhibition of human prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2 by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994;271(2):927–934.

3) Brogden RN, Heel RC, Pakes GE, Speight TM, Avery GS. Diclofenac sodium: a review of its pharmacological properties and therapeutic use in rheumatic diseases and pain of varying origin. *Drugs*. 1980;20(1):24-48.

4) Tang W, Stearns RA, Wang RW, Chiu SHL, Baillie TA. Roles of human hepatic cytochrome P450s 2C9 and 3A4 in the metabolic activation of diclofenac. *Chem Res Toxicol*. 1999; 12 (2):192 -199.

5) Rygnestad T, Kvam AM. Streptococcal myositis and tissue necrosis with intramuscular administration of diclofenac. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1995;39(8):1128-1130.

6) Pillans PI, O'Connor N. Tissue necrosis and necrotizing fasciitis after intramuscular administration of diclofenac. *Ann Pharmacother*. 1995; 29(3): 264-6.

7) Giovannetti M, Machado MA, Borrelli Junior M, Ikejiri CI, Alonso N, et al. Tissue necrosis: a side effect of sodium diclofenac: report of cases and discussion of the physiopathology. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo*. 1993;48(1):39-42.

8) Jick SS, Kaye JA, Jick H. Diclofenac and acute myocardial infarction in patients with no major risk factors. *Br J Clin Pharmacol*. 2007;64(5):662-7.

9) Sen C, Erdem M, Gunes T, Koseoglu D, Filiz NO. Effects of diclofenac and tenoxicam on distraction osteogenesis. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2007;127(3):153-9.

10) Banks AT, Zimmerman HJ, Ishak KG, Harter JG. Diclofenac-associated hepatotoxicity: analysis of 180 cases reported to the Food and Drug Administration as adverse reactions. *Hepatology*. 1995;22(3):820-7.

11) Boelsterli UA, Zimmerman HJ, Kretz-Rommel A. Idiosyncratic liver toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs: molecular mechanisms and pathology. *Crit Rev Toxicol*. 1995; 25(3):207-35.

12) Gómez-Lechón MJ, Ponsoda X, O'Connor E, Donato T, Castell JV, Jover R. Diclofenac induces apoptosis in hepatocytes by alteration of mitochondrial function and generation of ROS. *Biochem Pharmacol*. 2003;66(11):2155-67.

13) Gómez-Lechón MJ, Ponsoda X, O'Connor E, Donato T, Jover R, Castell JV. Diclofenac induces apoptosis in hepatocytes. *Toxicol In Vitro*. 2003;17(5-6):675-80.

14) Hickey EJ, Raje RR, Reid VE, Gross SM, Ray SD. Diclofenac induced in vivo nephrotoxicity may involve oxidative stress-mediated massive genomic DNA fragmentation and apoptotic cell death. *Free Radic Biol Med.* 2001;31(2):139-52.

15) Yamazaki R, Kusunoki N, Matsuzaki T, Hashimoto S, Kawai S. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs induce apoptosis in association with activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in rheumatoid synovial cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;302(1):18-25.

16) Cheraghali AM. Injectable diclofenac: a painful shot into Iran's health system. *Soc Sci Med.* 2006;63(6):1597-601.

17) Cao X, Shoichet MS. Defining the concentration gradient of nerve growth factor for guided neurite outgrowth. *Neuroscience*. 2001;103(3):831-40.

18) Roehm NW, Rodgers GH, Hatfield SM, Glasebrook AL.An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. *J Immunol Methods.* 1991; 142(2):257-65.

19) Isom GE, Borowitz JL. PC-12 cells. In: Tyson CA, Frazier JM. (Eds.). Methods in Toxicology. vol 1A. Academic Press. New York. 1993; pp: 82-93.

20) Cantoni L, Valaperta R, Ponsoda X, Castell JV, Barelli D,

Archive of SID
www.SID.ir

Rizzardini M, et al. Induction of hepatic heme oxygenase-1 by diclofenac in rodents: role of oxidative stress and cytochrome P-450 activity. *J Hepatol*. 2003;38(6):776-83.

21) Inoue A, Muranaka S, Fujita H, Kanno T, Tamai H, Utsumi K. Molecular mechanism of diclofenac-induced apoptosis of promyelocytic leukemia: dependency on reactive oxygen species, Akt, Bid, cytochrome and caspase pathway. *Free Radic Biol Med.* 2004; 37(8):1290-9.

22) Kudo C, Kori M, Matsuzaki K, Yamai K, Nakajima A, Shibuya A, et al. Diclofenac inhibits proliferation and differentiation of neural stem cells. *Biochem Pharmacol.* 2003; 66(2):289-95.

23) Brewer GJ, Torricelli JR, Evege EK, Price PJ. Optimized survival of hippocampal neurons in B27-supplemented Neurobasal, a new serum-free medium combination. *J Neurosci Res.* 1993;35(5):567-76.

24) Berenguer B, Sánchez LM, Quílez A, López-Barreiro M, de Haro O, Gálvez J, et al. Protective and antioxidant effects of Rhizophora mangle L. against NSAID-induced gastric ulcers. *J Ethnopharmacol.* 2006;103(2):194-200.

25) Shen S, Marchick MR, Davis MR, Doss GA, Pohl LR. Metabolic activation of diclofenac by human cytochrome P450 3A4: role of 5-hydroxydiclofenac. *Chem Res Toxicol*. 1999; 12(2):214-22.

26) Tang W, Stearns RA, Bandiera SM, Zhang Y, Raab C, Braun MP, et al. Studies on cytochrome P-450-mediated bioactivation of diclofenac in rats and in human hepatocytes: identification of glutathione conjugated metabolites. *Drug Metab Dispos.* 1999; 27(3):365-72.

27) Wang AG, Xia T, Yuan J, Yu RA, Yang KD, Chen XM, et al. Effects of phenobarbital on metabolism and toxicity of diclofenac sodium in rat hepatocytes in vitro. *Food Chem Toxicol*. 2004;42(10):1647-53.

28) Kretz-Rommel A, Boelsterli UA. Diclofenac covalent protein binding is dependent on acyl glucuronide formation and is inversely related to P450-mediated acute cell injury in cultured rat hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1993;120(1):155-61.

29) Kretz-Rommel A, Boelsterli UA. Mechanism of covalent adduct formation of diclofenac to rat hepatic microsomal proteins. Retention of the glucuronic acid moiety in the adduct. *Drug Metab Dispos*. 1994; 22(6):956-61.

Archive of SID

www.SID.ir