SID

فیلم های آموزشی

عضویت در خبرنامه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

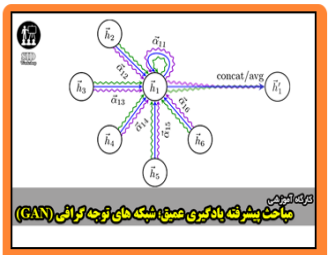
سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین مکالمه روزمره انگلیسی

کارگاه آنلاین آموزش استفاده از وب آو ساینس



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی

(Graph Attention Networks)

مقاله اصیل پژوهشی

اثر مورفین بر تکثیر سلول‌های سرطانی ریه (A549)

مصطفی لطیف‌پور[1]، عباس محمدی‌پور[2]

چکیده

زمینه و هدف: مورفین به‌طور گسترده در مراحل پیشرفته سرطان و به‌منظور تسکین درد بیماران استفاده می‌شود. با این وجود گزارشات متناقضی مبنی بر افزایش رشد تومور و کاهش میزان بقای حیواناتی که دچار تومور شده‌اند و یا ایجاد نکروز و القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی به دنبال مصرف مورفین وجود دارد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر مورفین بر تکثیر سلول‌های سرطانی ریه (A549) می‌باشد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، پس از کشت و تکثیر سلول‌های سرطانی ریه، سوسپانسیون سلولی معادل صد هزار سلول در میلی‌لیتر در محیط کشت تهیه شد. ده هزار سلول در حجم یک‌صد میکرولیتر از سوسپانسیون به هر چاهک پلیت ۹۶ حفره‌ای ریخته شد. پس از تقسیم چاهک‌ها به سه گروه کنترل، مورفین۱۰ و مورفین۳۰ به‌ترتیب محیط کشت، مورفین ۱۰ میکرومول و ۳۰ میکرومول اضافه گردید و پس از گذشت ۲۴ ساعت از انکوباسیون، تکثیر سلولی با استفاده از کیت WST -1 و روش الیزا مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: مورفین سبب افزایش تکثیر در سلول‌های سرطانی ریه گشت و بین افزایش دوز مورفین و میزان تکثیر سلولی رابطه معنی‌داری وجود داشت به‌طوری‌که میانگین دوز جذبی در گروه مورفین ۳۰، ۰/۱۸ ± ۱/۸۲ میکرومول بود که نسبت به گروه مورفین ۱۰ (۰/۰۸ ± ۱/۵۲ میکرومول) و گروه کنترل (۰/۰۹ ± ۱/۴۴) تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: با افزایش دوز مورفین سرعت تکثیر سلول‌ها افزایش می‌یابد. بر اساس یافته‌های این مطالعه پیشنهاد می‌شود مورفین در مورد بیماران ریوی با احتیاط بیشتری مصرف شود.

واژه‌های کلیدی: مورفین، سلول‌های سرطانی ریه، تکثیر سلولی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۰؛ ۱۸(۳): ۱۶۸- ۱۷۳

دریافت: ۱۳۸۹/۰۳/۲۴ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۴/۲۵

[1] نویسنده مسؤول؛ دانشجوی دکتری آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

آدرس: تهران- دانشگاه علوم پزشکی- دانشکده پزشکی- گروه آناتومی

تلفن: ۰۲۱۶۶۴۱۹۰۷۲ نمابر: ۰۲۱۶۶۴۱۹۰۷۲ پست الکترونیکی:mlatifpour@razi.tums.ac.ir

۲ دانشجوی دکتری آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

اوپیوئیدها ترکیبات مشتق از تریاک بوده و شامل مورفین، کودئین، بتائین و ... می باشند (۱). مورفین یکی از آلکالوئیدهای مؤثر و اصلی تریاک می‌باشد که ۷ الی ۱۴ درصد آن را تشکیل می دهد (۲). مورفین به خاطر اثرات ضد دردی بالا، به‌طور گسترده و به عنوان مسکن در بسیاری از بیماران از جمله بیماران سرطانی استفاده می شود (۳،۴). درد بیماران سرطانی شامل درد مستقیم ناشی از بافت‌های توموری و درد غیرمستقیم ناشی از درمان سرطان از قبیل جراحی، شیمی‌درمانی و رادیوتراپی می‌باشد. در مورد اثرات مورفین بر سلول‌های سرطانی، نتایج ضد و نقیضی وجود دارد. برخی محققان بیان کرده‌اند که تجویز مورفین رشد سلول‌های سرطانی را در محیط کشت افزایش می‌دهد (۵،۶) در حالی که نتایج آزمایشات برخی دیگر از محققان خلاف این گفته‌ها را نشان می‌دهد (۴،۷،۸). محققان نشان دادند که مورفین از طریق افزایش تولید نیتریک اکساید در ماکروفاژها باعث افزایش مرگ آپوپتتیک آن‌ها می شود (۹) و از طریق تغییر در بیان ژن‌های Bax و Bcl2 باعث افزایش آپوپتوز لنفوسیت‌های T می‌شود (۱۰)؛ در حالی‌که در مطالعات قبلی گزارش کرده بودند که مورفین از آپوپتوز ماکروفاژها جلوگیری می‌کند (۱۱). این نشان‌دهنده تأثیر متناقض مورفین روی رشد سلول‌ها می‌باشد. این اثر مورفین توسط استرس‌های اکسیداتیو هماهنگ می‌شود؛ در سلول‌های اندوتلیال، مورفین از طریق افزایش ترشح نیتریک اکساید باعث افزایش قطر عروق می‌شود (۱۲) و در سلول‌های غیراندوتلیالی از طریق فعال‌سازی مسیر MAPK/ERK باعث افزایش تکثیر آن‌ها می‌گردد (۱۳،۱۴). به‌دنبال تأثیر قوی مورفین در القای آنژیوژنز در محیط کشت، محققان نشان دادند که مورفین در محیط داخلی بدن هم باعث افزایش نئوآنژیوژنز در سرطان پستان می شود (۱۵). با توجه به استفاده مداوم از مورفین برای تسکین درد در بیماران سرطانی و اهمیت اثر آن بر رشد سلول‌های سرطانی و با توجه به نتایج ضد و نقیض در این رابطه، در این مطالعه اثر دوزهای ضد دردی مورفین بر تکثیر سلول‌های سرطانی ریه مورد مطالعه قرار گرفته است.

روش تحقیق

مواد و وسایل: در این مطالعه‌ی تجربی از سلول‌های سرطانی رده A549 در محیط کشت استفاده گردید. رده سلولی A549 از بانک سلولی انیستیتو پاستور ایران تهیه شد. سرم جنین گاو، محیط کشت (DMEM-F12) و تریپسین از کمپانی Sigma-Aldrich، فلاسک‌ها، پلیت‌های ۹۶ حفره‌ای و لوله‌های سانتریفیوژ از کمپانی Falcon خریداری شدند. کیت سنجش تکثیر سلولی از کمپانی Roche آلمان خریداری شد (Cell Proliferation Reagent WST-1).

سنجش تکثیر سلولی:

سلول‌ها در فلاسک ۲۵ سانتی‌متری و در محیط کشت حاوی ۱۰ درصد سرم کشت داده شده و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد حاوی ۶ درصد دی‌اکسیدکربن و ۵۶ درصد رطوبت نگهداری شدند. پس از رشد و تکثیر، سلول‌ها به کمک تریپسین ۰/۲۵ درصد از کف پلیت جدا شدند. سوسپانسیون سلولی معادل صدهزار سلول در میلی‌لیتر در محیط کشت تهیه شد. ده هزار سلول در حجم یک‌صد میکرولیتر از سوسپانسیون به هر چاهک پلیت ۹۶ حفره‌ای ریخته شد. سپس رقت‌های مختلف سولفات مورفین (شرکت سیگما) شامل مورفین ۱۰ میکرومول و مورفین ۳۰ میکرومول در آب مقطر تهیه شد (۱۶) و ۵۰ میکرولیتر از هر رقت به شش چاهک افزوده شد، به ترتیبی که رقت نهایی مورفین در ۱۰ و۳۰ میکرومول تنظیم گردد. شش چاهک حاوی سلول (۳ چاهک مورفین ۳۰ و ۳ چاهک مورفین ۱۰) و ۳ چاهک حاوی محیط کشت (به عنوان کنترل) تهیه شد. کلیه آزمایشات ۹ بار تکرار شدند. پلیت‌ها در شرایط استاندارد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. از آن‌جا که سلول‌های فوق چسبنده‌اند و جهت ارزیابی باید در شرایط نرمال رشد قرار داشته باشند، تمامی آزمایشات بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون

Archive of SID
www.SID.ir

در چاهک‌های پلیت کشت سلول (بعد از چسبیدن کامل سلول به کف پلیت) انجام گرفت. سپس رشد و تکثیر سلول‌ها در پایان زمان انکوباسیون، طبق دستورالعمل کارخانه سازنده کیتِ سنجش تکثیر سلولی انجام شد. بدین منظور ۵۰ میکرولیتر از کیت مورد نظر به هر یک از چاهک‌ها افزوده شد و پلیت‌ها به مدت یک ساعت دیگر انکوبه شدند. شدت رنگ ایجاد شده در چاهک‌ها به وسیله دستگاه Eliza reader در ساعت‌های صفر و یک در طول موج ۴۸۰ نانومتر ثبت گردید.

روش بررسی داده‌ها

پردازش آماری داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه و مقایسه چندگانه با آزمون Tukey HSD انجام شد. از نرم‌افزار SPSS برای آنالیز داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها

پس از محاسبه اختلاف بین داده‌های ساعت یک و داده‌های ساعت صفر و بررسی و آنالیز داده‌ها مشاهده شد که تجویز مورفین به محیط کشت سلول‌های سرطانی ریه، با دوزهای ۱۰ و ۳۰ میکرومول منجر به افزایش تکثیر و تعداد سلول‌های سرطانی می‌گردد. طبق نتایج بدست آمده از این مطالعه، میانگین دوز جذبی در گروه مورفین ۱۰، ۱/۵۲±۰/۰۸، در گروه مورفین ۳۰، ۰/۱۸ ± ۱/۸۲ و در گروه کنترل، ۱/۴۴±۰/۰۹ بود که اختلاف گروه مورفین ۳۰ با گروه‌های مورفین ۱۰ و کنترل معنی‌دار بود ($P<0/05$) ولی اختلاف گروه مورفین ۱۰ با گروه کنترل معنی‌دار نبود.

بحث

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، استفاده از مورفین سبب افزایش تکثیر سلول‌های سرطانی ریه در محیط کشت می‌گردد. نتایج آزمایشات قبلی در مورد اثرات مورفین بر سلول‌های سرطانی متناقض می‌باشد. Ishikawa و همکارانش طی تحقیقی بیان کردند که تجویز مورفین به مدت ۱۰ روز با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، رشد سلول‌های سرطانی را در موجود زنده افزایش می دهد (۵). Simon و همکاران نیز در سال۱۹۸۵ اعلام داشتند که مورفین رشد متاستاتیک تومور را افزایش می‌دهد (۶). همچنین Marzena و همکاران در سال ۲۰۱۰ طی مطالعه‌ای ثابت کردند که تجویز مورفین باعث افزایش رشد سلول‌های سرطانی در تومور گلیوبلاستوما می شود (۱۷). نتایج مطالعات ما نتایج حاصل از این تحقیقات را تأیید می‌کند. از طرفی دیگر نتایج آزمایشات برخی محققان خلاف این گفته‌ها را بیان می‌کند. Pageو همکارانش طی چندین تحقیق دریافتند که تجویز مورفین در بیماران سرطانی احتمال بروز متاستازهای بعدی را در این بیماران کاهش می‌دهد (۷،۱۸،۱۹). Hatzoglou و همکارانش در سال ۱۹۹۶ به این نتیجه رسیدند که مورفین رشد سلول‌های سرطان پستان را کاهش می‌دهد (۲۰).

Sueoka در همان سال بیان داشت که مورفین از طریق مهار فاکتور نکروز تومور از رشد بیشتر سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کند (۸) و Maneckjee آپوپتوز را عامل ضدسرطانی مرفین معرفی کرد (۲۱). Takashi و همکاران در سال ۲۰۰۲ اعلام داشتند که تجویز مورفین باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی و مهار متاستاز می‌گردد (۲۲). ثابت شده است که مورفین از طریق افزایش تولید نیتریک اکساید در ماکروفاژها باعث افزایش مرگ آپوپتوزی آن‌ها می‌شود (۹) و از طریق تغییر در بیان ژنهای Bax و Bcl2 باعث افزایش آپوپتوز لنفوسیت‌های T می‌گردد (۱۰). در حالیکه در مطالعات قبلی گزارش کرده بودند که مورفین از آپوپتوز ماکروفاژها جلوگیری می‌کند (۱۱) و این نشان‌دهنده‌ی تأثیر متناقض مورفین روی رشد سلول‌ها می‌باشد؛ این اثر مورفین توسط استرس‌های اکسیداتیو هماهنگ می‌شود. مورفین در سلول‌های اندوتلیال از طریق افزایش ترشح نیتریک اکساید باعث افزایش قطر عروق می شود (۱۲) و در سلول‌های غیراندوتلیالی از طریق فعال‌سازی مسیر MAPK/ERK باعث افزایش تکثیر آن‌ها می شود (۱۳،۱۴). به‌دنبال تأثیر قوی مورفین در القای آنژیوژنز در محیط کشت، محققان

Archive of SID
www.SID.ir

نشان دادند که مورفین در محیط داخلی بدن هم باعث افزایش نئوآنژیوژنز در سرطان پستان می‌شود (۱۵). پس در کل، مورفین از دو طریقِ افزایش آنژیوژنز و افزایش رشد سلول‌ها باعث رشد تومور می‌شود. با توجه به این مستندات، احتمالاً مورفین بر سلول‌های سرطانی بافت‌ها و رده‌های مختلف تومورها اثرات متفاوتی دارد که لازم است هر یک از آن‌ها جداگانه بررسی شوند. به هر حال بر اساس یافته‌های این مطالعه پیشنهاد می‌شود در مورد بیماران مبتلا به سرطان ریه از مورفین به عنوان مسکن، خصوصاً در دوزهای بالا با احتیاط بیشتری استفاده شود، هر چند که این مساله نیاز به بررسی‌ها و مطالعات بیشتری دارد.

نتیجه‌گیری

سرعت تکثیر سلول‌های سرطانی ریه با افزایش دوز مورفین افزایش می یابد.

تقدیر و تشکر

از کلیه اساتید و کارکنان گروه آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران که باعث فراهم آمدن امکانات برای انجام این مطالعه شدند، کمال تشکر را داریم.

منابع:

1- Chuchkova NN, Glumova VA,Cherenkov IA, Iuminova NA .Interrelation of morphological parameters in the system of neuroendocrine regulation following longterm morphine administration. Morfologiia. 2004;125 (3): 81-5.

2- Badawy AA, Evans CM, Evans M. Production of tolerance and physical dependence in the rat by simple administration of morphine in drinking water. Br. J. Pharmac. 1982, 75, 485-491.

3- Cadet P, Rasmussen M, Zhu W, Tonnesen E, Mantione K, Stefano G. Endogenous morphinergic signaling and tumor growth. Front Biosci. 2004; 9:3176-3186

20- Hatzoglou A, Ouafik L, Bakogeorgou E, Thermos K and Castanas E. Morphine Cross-reacts with somatostatinreceptorescellgrowth. Cancer Res. 1995; 55:5632-5636

5- Ishikawa M, Tanno K, Kamo A, Takayanagi Y, Sasaki K. Enhancement of Tumor growth by morphine and its possible mechanism in mice. Biol Pharm Bull.1993; 16:762-766

21- Maneckjee R,Minna JD.Opioids induce While nicotine suppresses apoptosis in human lung cancer cells. Cell Growth Differ. 1994; 5:1033-1040

7- Page GG, Ben Eliyahu S, Yirmiya R, Liebeskind JC. Morphine attenuates surgery-induced enhancement of metastatic colonization in rats. Pain. 1993; 54:21-28

18- Page GG, Ben Eliyahu S, Yirmiya R, Liebeskind JC. The role of LGL/NK cell in surgery-induced promotion of metastasis and its attenuation by morphine. Brain Behav Immun. 1994; 8:241-250

19- Page GG, McDonald JS, Ben Eliyahu S. Pre-operative versus postoperative administration of morphine:impact on the neuroendocrine, behavioural, and metastatic-enhancing effects of surgery. Br J Anaesth. 1998; 81:216-223

4- Rasmussen M, Zhu W, Tonnesen J, Cadet P, Tonnesen E, Stefano G. Effects of morphine on tumor growth. Neuro Endocrinol Lett. 2002; 23:193-198

6- Simon R and Arbo T. Morphine increases metastatic tumor growth. Brain Res Bull. 1986; 16:363-367

8- Sueoka N, Sueoka E, Okabe S and Fujikii H. Anti cancer effects of morphine through inhibition of tumor necrosis factor-alpha release and mRNA expression. Carcinogenesis 1996; 17:2337-2341

9- P.C. Singhal, P. Sharma, A.A. Kapasi, K. Reddy, N. Franki, N. Gibbons, Morphine enhances macrophage apoptosis, J. Immunol. 1998: 1886–1893.

10- P.C. Singhal, A.A. Kapasi, K. Reddy, N. Franki, N. Gibbons, G. Ding, Morphine promotes apoptosis in Jurkat cells, J. Leukocyte Biol. 1999: 650–658.

Archive of SID
www.SID.ir

11- S. Suzuki, A.J. Chuang, L.F. Chuang, R.H. Doi, R.Y. Chuang, Morphine promotes simian acquired immunodeficiency syndrome virus replication in monkey peripheral mononuclear cells: induction of CC chemokine receptor *5 expression for virus entry, J Infect Dis. 2002: 185:1826–1829.

12- Stefano, G. B., Hartman, A., Bilfinger, T. V., Magazine, H. I., Liu, Y., Casares, F., and Goligorsky, M. S. Presence of the mu3 opiate receptor in endothelial cells. Coupling to nitric oxide production and vasodilation. J. Biol. Chem. 1995: 270: 30290–3.

13- Trapaidze, N., Gomes, I., Cvejic, S., Bansinath, M., and Devi, L. A. Opioid receptor endocytosis and activation of MAP kinase pathway. Brain Res. Mol. Brain Res. 2000: 76: 220–228.

14- Bohn, L. M., Belcheva, M. M., and Coscia, C. J. Mitogenic signaling via endogenous kappa-opioid receptors in C6 glioma cells: evidence for the involvement of protein kinase C and the mitogen- activated protein kinase signaling cascade. J. Neurochem. 2000: 74: 564–573.

15- Kalpna Gupta,2 Smita Kshirsagar, Liming Chang, Robert Schwartz, et al. Morphine Stimulates Angiogenesis by Activating Proangiogenic and Survivalpromoting Signaling and Promotes Breast Tumor Growth1. Cancer Res. 2002: 62: 4491–4498

16- Yi Li, XiuLi Sun, Yi Zhang, JingJing Huang, Gregory Hanley, Kenneth E. Ferslew, Ying Peng , DeLing Yin. Morphine promotes apoptosis via TLR2, and this is negatively regulated by b-arrestin 2. BBEC. 2009; 378: 857–861

17- Marzena L, Ewa M and Andrzej WL. A comparative study of morphine stimulation and biphalin inhibition of human glioblastoma T98G cell proliferation in vitro. Peptides. 2010; 31: 1606–1612

22- Takashi S, Shigenobu N, Yuko I, Hideki F, Jun M, Ikuo S, Hiroshi N and Yasushi K. Morphine analgesia suppresses tumor growth and metastasis in a mouse model of cancer pain produced by orthotopic tumor inoculation. Eur J Pharmacol. 2002; 441: 185– 191.

Archive of SID

www.SID.ir

Abstract *Original Article*

Effects of morphine on proliferation of A549 lung cancer

M. Latifpour [1], A. Mohammadipour[2]

Background and Aim: Morphine is frequently used for patients suffering cancer in their end stages to relive pain. However, there are conflicting reports suggesting morphine to promote tumor growth and reduce survival rate in cancerous animal models or induce necrosis and apoptosis in the tumor cells. In the present study, we studied the effect of morphine on proliferation of human lung adenocarcinoma epithelial cell line (A549).

Materials and Methods: In this experimental study, after culturing A549 line cells, a suspension of 10^5 cell/ml was obtained. Then a concentration of 10^4 cell/100µl was added to each 96 wells of the plates. The wells were then categorized into three groups including control (containing no morphine), morphine 10 (containing10µm morphine) and morphine 30 (containing 30µm morphine). After 24h of incubation, the proliferation of A549 cells were examined using WST-1 cell counting Kit and Eliza method.

Results: Morphine induced proliferation in lung tumor cells; there was a significant association between increase in dose of morphine and rate of cell proliferation. Mean absorption dose in the group recieving 30µM of morphine (1.82±0.18) was significantly different from those recieving 10µM (1.52±0.08) or no morphine (1.44±0.09) ($P<0.05$).

Conclusion: Rate of cell proliferation is increased with increasing doses of morphine in lung cancer. We propose use of morphine with more caution in lung cancer patients.

Key Words: Morphine, proliferation, A549 cell line

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2011; 17(3): 168- 173

Received: June 14, 2010 Accepted: July 16, 2011

1Corresponding Author; PhD of Anatomy Student, Department of Anatomy, School of Medicine, Tehran University of Medical sciences, Tehran, Iran mlatifpour@razi.tums.ac.ir
2 PhD of Anatomy Student, Department of Anatomy, School of Medicine, Mashhad University of Medical sciences, Mashhad, Iran

Archive of SID
www.SID.ir

SID

فیلم های آموزشی

عضویت در خبرنامه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

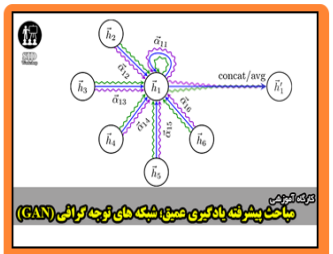
سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین مکالمه روزمره انگلیسی

کارگاه آنلاین آموزش استفاده از وب آو ساینس



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی

(Graph Attention Networks)