



โครงการ: ผลของยาต้านอักเสบต่อการอยู่รอด
ของเซลล์เพาะเลี้ยงรกชนิด cytotrophoblast
(เซลล์ BeWo และ JAR)

โดย ดร.อริป นิลแก้ว และคณะ

พฤษภาคม 2550

บทคัดย่อ

การใช้ยาต้านอักเสบในระหว่างตั้งครรภ์นั้นพบได้บ่อย และใช้เพื่อการรักษาโรคต่างๆ ตั้งแต่รักษาอาการไข้ แก่ปวดจนถึงโรคข้ออักเสบ โรคอหิวาต์และโรคลำไส้อักเสบ การใช้ยาดังกล่าวในปริมาณที่สูงมักส่งผลเสียต่อทั้งมารดาและทารกในครรภ์ ตัวอย่างของความผิดปกติของการตั้งครรภ์ที่เกิดจากการใช้ยากลุ่มนี้ได้แก่ ทารกเสียชีวิต ทารกน้ำหนักแรกเกิดต่ำ และพัฒนาการของทารกผิดปกติ ซึ่งพยาธิสภาพเหล่านี้เป็นส่วนหนึ่งที่จะเกิดจากการรบกวนพัฒนาการของรก อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับปฏิกิริยาของยากับเซลล์รกของคน ดังนั้นในโครงการวิจัยนี้ผู้ดำเนินโครงการวิจัยได้ศึกษาผลของยาด้านอักเสบ 6 ชนิดได้แก่ ยา aspirin, dexamethasone, indomethacin, mesalamine, naproxen, และ sulfasalazine ต่อเซลล์เพาะเลี้ยงของเซลล์รกโทรโพลาสต์ของคน (JAR และ BeWo) ในแง่ผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ ความเป็นพิษ การดำเนินของวงจรเซลล์ การกระตุ้นการตาย การแสดงออกของจีน และการรุกรานของเซลล์

จากการทดลองพบว่าในเซลล์ทั้งสองชนิดพบว่ายา indomethacin มีความเป็นพิษมากที่สุดและยา mesalamine มีความเป็นพิษน้อยที่สุดโดยเปรียบเทียบจากค่า IC50 กล่าวคือ ค่า IC50 ของยาในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ JAR มีค่าเป็น 69.35 $\mu\text{g/mL}$, 68.43 $\mu\text{g/mL}$, 10.96 $\mu\text{g/mL}$, 59.92 $\mu\text{g/mL}$, 17.31 $\mu\text{g/mL}$ และ 69.35 $\mu\text{g/mL}$ ในยา aspirin, dexamethasone, indomethacin, mesalamine, naproxen, และ sulfasalazine ตามลำดับ ส่วนในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ BeWo มีค่าเป็น 116.57 $\mu\text{g/mL}$, 80.48 $\mu\text{g/mL}$, 17.58 $\mu\text{g/mL}$, 192.54 $\mu\text{g/mL}$, 81.13 $\mu\text{g/mL}$ และ 79.04 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ยาทุกชนิดส่งผลให้เซลล์มีการปล่อยเอนไซม์แล็กเททไฮโดรจีเนสเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยาทุกชนิดมีผลยับยั้งการเกาะติดของเซลล์ JAR แต่ไม่มีผลดังกล่าวต่อการเกาะติดของเซลล์ BeWo

การศึกษาผลของยาต่อการดำเนินของวงจรเซลล์พบว่ายาทุกชนิดมีผลทำให้การดำเนินวงจรเซลล์ช้าลง และทำให้เกิดการตายในที่สุดโดยยาทุกชนิดมีผลกระตุ้นการตายของเซลล์แบบ apoptosis ในการศึกษาผลของยาต่อการแสดงออกของจีนที่สร้างฮอโมน hCG พบว่า ยาทุกตัวมีแนวโน้มทำให้การแสดงออกของจีนลดลง เช่นเดียวกับจีนที่เกี่ยวข้องกับการตาย *bax* และ *bcl-2* นอกจากนี้พบว่ายาดังกล่าวสามารถยับยั้งการรุกรานของเซลล์รกได้อย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อเปรียบเทียบค่า IC50 และค่าช่วงความเข้มข้นของยาเหล่านี้กับค่าความเข้มข้นของยาในพลาสมาของทารกพบว่าค่า IC50 ของยา aspirin มีค่าต่ำกว่าค่าความเข้มข้นของยาในพลาสมาของทารกประมาณ 25-40 เท่า ส่วน IC50 ของยา naproxen นั้นมีค่าเป็น 0.25-1.2 เท่าของค่าความเข้มข้นของยาในพลาสมาของทารก จากค่าดังกล่าวนี้เองน่าจะแสดงให้เห็นว่าการใช้ยาทั้งสองชนิดนี้นั้นควรต้องเป็นไปอย่างระมัดระวัง ส่วน IC50 ของยาที่เหลือในการทดลองนี้นั้นมีค่าสูงกว่าค่าความเข้มข้นของยาในพลาสมาของทารก ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายาดexamethasone, indomethacin, mesalamine และ sulfasalazine น่าจะปลอดภัยต่อการตั้งครรภ์มากกว่ายา aspirin และ naproxen อย่างไรก็ตามยาเหล่านี้มักก่อให้เกิดผลร้ายแรงต่อการตั้งครรภ์ถ้าใช้ในไตรมาสสุดท้ายหรือใกล้คลอดบุตร

เมื่อกล่าวโดยรวมแล้วผลการทดลองจากงานวิจัยชิ้นนี้ได้แสดงให้เห็นชัดเจนว่า ยาต่างชนิดที่มีโครงสร้างโมเลกุลของต่างกัน แต่มีกลไกทางเภสัชวิทยาที่คล้ายกันนั้น มีความเป็นพิษต่อเซลล์รกได้ต่างกัน กลไกของความเป็นพิษต่อเซลล์รกนั้นค่อนข้างคล้ายกัน ข้อมูลจากการทดลองนี้น่าจะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาในอนาคตและในการใช้ยาในขณะตั้งครรภ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นเพื่อลดผลเสียต่อการตั้งครรภ์ให้มากที่สุด

คำหลัก: เซลล์รกไซโตโทรโพลาสต์, ยาด้านอักเสบ, การเพิ่มจำนวนเซลล์, การเกาะติดของเซลล์, ความเป็นพิษต่อเซลล์, การดำเนินของวงจรเซลล์, การตายของเซลล์, การแสดงออกของจีน, การรุกราน, ยา aspirin, dexamethasone, indomethacin, mesalamine, naproxen, sulfasalazine

ABSTRACT

Anti-inflammatory drugs are among the most frequently used medication during pregnancy. The drugs are beneficial for treatment of several symptoms, including fever, pain, arthritis, autoimmunity and colitis. High doses of the drugs often result in maternal and fetal morbidity and mortality. Examples of the adverse outcomes of pregnancy after taking the drugs are perinatal mortality, intrauterine growth retardation, and birth defect from drug teratogenic effects. Pathogenesis of these disorders is partially attributed to interference of placental development by the drugs. However, there is no report demonstrating the interaction of these drugs with human placenta cells. In this study, we therefore determined the effects of aspirin, dexamethasone, indomethacin, mesalamine, naproxen and sulfasalazine on human placental trophoblast cell lines (JAR and BeWo) for cell proliferation, cell adhesion, cytotoxicity, cell cycle progression, cell death, gene expression and cell invasion.

By comparing the IC₅₀ value for cell proliferation, indomethacin exerts the most toxicity while mesalamine is the least cytotoxic drug to cytotrophoblast cell lines. IC₅₀ values of these drugs on JAR cell proliferation are 69.35 µg/mL, 68.43 µg/mL, 10.96 µg/mL, 59.92 µg/mL, 17.31 µg/mL and 69.35 µg/mL for aspirin, dexamethasone, indomethacin, mesalamine, naproxen, and sulfasalazine, respectively. IC₅₀ values of these drugs on BeWo cell proliferation are 116.57 µg/mL, 80.48 µg/mL, 17.58 µg/mL, 192.54 µg/mL, 81.13 µg/mL and 79.04 µg/mL, respectively. In a related experiment, all drug treatments resulted in increase of lactate dehydrogenase to the conditioned media. In addition, all drugs treatments reduced JAR cells, but not BeWo cells, adhesion during the first 3 hours of drug exposure.

Further analysis on the effects of these drugs on trophoblast cell cycle progression revealed that all drug treatments resulted in a delayed cell cycle, followed by the induction of apoptosis cell death. In addition, we also demonstrated that all drugs decreased human chorionic gonadotropin gene expression, as well as *bax* and *bcl-2*. Also, we demonstrated that all drug treatments resulted in a decrease cell invasion.

By comparing the IC₅₀ values of trophoblast proliferation, IC₅₀ of aspirin is 25-40 times lower, and IC₅₀ of naproxen is 0.25-1.2 times lower than their corresponding drug fetal plasma concentrations. This indicates that the usage of aspirin and naproxen should be highly cautious. IC₅₀ of dexamethasone, indomethacin, mesalamine and sulfasalazine are higher than their corresponding drug fetal plasma concentrations. This may indicate that dexamethasone, indomethacin, mesalamine and sulfasalazine are alternative drug of choice other than aspirin and naproxen. However, the usage of these drugs may result in adverse outcome of pregnancy, if use during the 3rd trimester or near delivery.

In conclusion, results from our research project clearly demonstrate, for the first time, that different anti-inflammatory drugs with different molecular structures, however have similar pharmacological actions, exert different degree of toxicity to human placental cells. Our data are definitely beneficial for the future study and the usage of these drugs during pregnancy.

Keywords: cytotrophoblast, anti-inflammatory drugs, cell proliferation, cell adhesion, cytotoxicity, cell cycle progression, cell death, gene expression, invasion, aspirin, dexamethasone, indomethacin, mesalamine, naproxen, sulfasalazine