

# تنظیم ترشح پروستاگلاندین $E_2$ توسط مهارگران آنزیم های سیکلواکسیژناز ( نوع I و II ) و پروستاگلاندین دهیدروژناز در سلولهای تروفوبلاست جفت انسانی

دکتر ناصر میرازی\*، دکتر نادیا الفائدی\*\*، دکتر جان چلیس\*\*

## چکیده:

مطالعات جدید در سلولهای کوریون و آمیون نشان داده است که گلوکوکورتیکوئیدها (GC) به ترتیب موجب افزایش و کاهش مقدار فعالیت آنزیم های PGHS و PGDH می گردد. اثر GC در مقدار ترشح این آنزیمها در سلولهای جفت (PC) نا مشخص است. جهت پی بردن به این موضوع بر آن شدیم تا در سلولهای جفت انسانی تاثیر این آنزیم ها را معلوم نمائیم.

در این مطالعه ۱۲ عدد جفت انسان پس از عمل سزارین از زنان با زایمان زودرس تهیه گردید. سلولهای جفتی را با استفاده از غلظت های خاص محلول Percoll جدا کرده و بعد از ۷۲ ساعت از کشت سلولی، محیط کشت تعویض و سپس سلولها برای مدت ۲۴ ساعت دیگر در مجاورت با داروهای دگزامتازون، ملوکسیکام و سولفاسالازین ( $1 \mu M$ ) به همراه اسید آراشیدونیک ( $5 \mu M$ ) قرار گرفتند. پس از دوره انکوباسیون، محیط کشت سلولی جهت تعیین مقدار ترشح  $PGE_2$  توسط روش رادیو ایمنونو آسی (RIA) جمع آوری شد. نتایج حاصله با استفاده از روش آماری Student's t-test و One-way ANOVA ارزیابی شد و اختلافات حاصله با  $P < 0.05$  معنی دار تلقی گردید.

دگزامتازون و سولفاسالازین مقدار ترشح  $PGE_2$  را در PC به طور معنی داری افزایش داده و مصرف همزمان آن دو موجب افزایش بسیار بیشتری در ترشح  $PGE_2$  نسبت به مصرف دگزامتازون به تنهایی گردید. ملوکسیکام تاثیر قابل توجهی در ترشح پایه ای  $PGE_2$  نداشت و کاربرد همزمان آن با دگزامتازون افزایش مختصری را در ترشح  $PGE_2$  داشت که به طور معنی داری کمتر از مقداری بود که دگزامتازون + سولفاسالازین و یا سولفاسالازین به تنهایی ایجاد می کردند.

این نتایج نشان می دهند که ترشح  $PGE_2$  به وسیله PC در انسان بیشتر بستگی به فعالیت آنزیم PGHS-I دارد تا آنزیم PGHS-II. اثر سولفاسالازین مبین اهمیت ترشح داخلی آنزیم PGDH در تنظیم ترشح  $PGE_2$  بوده و تداخل اثرات این داروها دلالت بر آن دارد که اثر تحریکی GC در مقدار  $PGE_2$  مترشحه توسط PC ممکن است بدلیل افزایش فعالیت آنزیم PGHS و کاهش فعالیت آنزیم PGDH باشد.

کلید واژه ها: آنزیم های سیکلواکسیژناز / پروستاگلاندین  $E_2$  / پروستاگلاندین دهیدروژناز / سلولهای تروفوبلاست جفت انسانی

\* استادیار فیزیولوژی گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه بوعلی سینا همدان

\*\* عضو هیأت علمی گروه فیزیولوژی و مامائی دانشگاه تورنتو - کانادا

## مقدمه :

زایمان در انسان و حیوان حاصل تأثیرات پیچیده فاکتورهای مادری - جنینی می باشد (۲۰۱). در این میان حضور پروستاگلاندین ها بسیار مهم بوده و شرکت مؤثر آنها در پدیده زایمان نقش تعیین کننده ای دارد به نحویکه افزایش یا کاهش یک یا چند نوع از پروستاگلاندین ها می تواند در تسریع یا تأخیر این پدیده فیزیولوژیک اثر قابل توجهی اعمال نماید (۴-۲). پروستاگلاندین ها از اسید آراشیدونیک تولید شده در غشاء سلولها و در پی تأثیر مکانیسم های آنزیمی سیکلواکسیژناز نوع I و II ساخته می شوند(۵،۶). در خلال دوره آبستنی، سنتز پروستاگلاندین ها در بافت های رحمی، آمنیون و کوریون افزایش می یابد و سطح سرمی آنها به ویژه در زمان زایمان بالا می رود(۹-۷). در هنگام زایمان ظهور این واسطه های فیزیولوژیک توسط فعالیت آنزیم های پروستاگلاندین H سینتاز (PGHS-I و PGHS-II) و آنزیم متابولیزه کننده پروستاگلاندین ۱۵- هیدروکسی دهیدروژناز (PGDH) تعیین می گردد(۱۳-۱۰). در بعضی از مطالعات انجام شده، افزایش مقدار mRNA آنزیم PGHS-II در هنگام زایمان در بافتهای آمنیون و کوریون گزارش شده است (۱۶-۱۴). در مطالعه ای که اخیراً بر روی گوسفند انجام شده است نشان داده شد که در اواخر دوره آبستنی میزان گلوکوکورتیکوئیدها در بافت های جنینی از جمله غدد فوق کلیوی افزایش می یابد(۱۴،۱۶). معلوم گردیده است که کورتیزول در جفت موجب تغییر استروئیدوزن شده به طوریکه مقدار پروژسترون کاهش یافته و بر میزان استروژن ها افزوده می گردد. این روند در جفت در ارتباط با افزایش آنزیم های جفتی P<sub>450C17</sub> می باشد(۱۷،۱۵). مطالعات جدید نشان می دهد که در آمنیون و کوریون گلوکوکورتیکوئیدها افزایش می یابند و این پدیده در افزایش فعالیت آنزیم PGHS و کاهش فعالیت آنزیم PGDH مؤثر می باشد (۱۴،۱۸،۱۹). تأثیر گلوکوکورتیکوئیدها بر روی بروز فعالیت این آنزیم ها در سلول های تروفوبلاست جفتی بدرستی معلوم نیست.

در این رابطه جهت پی بردن به نقش گلوکوکورتیکوئیدها در سلولهای جفت انسان مطالعه حاضر انجام شد. با این فرضیه که گلوکوکورتیکوئیدها در سلول های جفت انسانی می توانند بر آنزیم PGHS-II

تأثیر گذاشته و مقدار پروستاگلاندین ها را در این سلولها افزایش دهند. برای تعیین دقیق این اثر از تعدادی ترکیبات تحریک کننده و مهار کننده اختصاصی آنزیم های مداخله کننده در سنتز و متابولیز پروستاگلاندین ها نظیر ملوکسیکام، دگزامتازون، ایندومتاسین و سولفاسالازین استفاده گردید.

## روش کار:

برای انجام این پروژه اقدام به تهیه جفت انسانی از زنان سزارین شده در هنگام زایمان گردید (n=12). سپس با استفاده از روش کلیمن آمنیون و کوریون از بافتهای جفت جدا گردید (۲۰). از هر جفت انسان مقداری در حدود ۱۰۰ گرم برداشته و پس از شستشوی کامل با سرم فیزیولوژی، توسط قیچی آن را خرد کرده و در محلول DMEM (Life Technologies, Grand Island, NY) حاوی آنزیم تریپسین (۰/۱۲۵٪/Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) و دئوکسی ریبونوکلاز (۰/۲٪/Sigma Chemical Co.) قرار داده شد. سلول های جفت شناور شده در محلول را با استفاده از فیلتر نایلونی دارای منافذ ریز با قطر ۲۰۰ μm جدا کرده و در محلول Percoll (Sigma Chemical Co.) حاوی غلظت های بین ۷۰-۵٪ (از هر غلظت به میزان ۳ mL) قرار داده شد. پس از عمل سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه و با دور ۲۳۰۰ rpm در دمای اتاق سلول ها کاملاً از سایر بافت ها جدا شدند. سلول های جفت جدا شده را ابتدا با بکار بردن ۲۰ ml Trypan blue و استفاده از لام کووا (Kova glasstic slide, Hycor: CA, USA) شمارش کرده و سپس در ظروف مخصوص پلاستیکی حاوی ۲۴ چاله (Coring Coster Cop. Cambridge, MA) و با دانسیته ای حدود ۱۰<sup>۶</sup> Cell/ml در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ FCS (Fetal Calf Serum, Life Technologies) و ۱٪ آنتی بیوتیک که حاوی ۰/۰۵٪ جنتامیسین و ۰/۰۱٪ استریپتومایسین (Sigma Chemical Co.) می باشد قرار داده شد. سلول ها برای مدت ۷۲ ساعت جهت کشت در انکوباتور ۳۷°C و با شرایط ۹۵٪ هوا و ۵٪ CO<sub>2</sub> نگهداری شدند (۱۱).

درمان سلول های جفت :

بعد از گذشت ۳ روز از دوره انکوباسیون، سلولهای جفت با محیط کشت DMEM بدون FCS شستشو

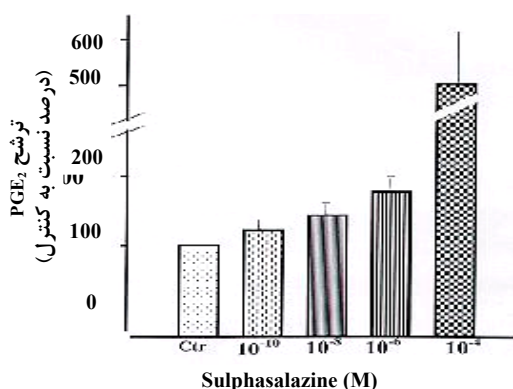
داده شدند. سپس سلول ها برای مدت ۲۴ ساعت دیگر در انکوباتور و در مجاورت DMEM تنها نگهداری شدند. جهت بررسی کیفیت رشد سلول ها و تولید سنسیتوم توسط آنها، از آنتی بادی های Cytokeratin با رقت ۱/۱۰۰۰۰ (Dako Corp., Santa Barbara, CA) و Vimentin با رقت ۱/۱۰۰ (Dako Corp.) و رنگ آمیزی با هماتوکسیلین کارازیز (Fisher Scientific, Fairlawn, NJ) استفاده شد و بوسیله میکروسکوپ نوری مشاهده گردیدند. در این مدت به محیط کشت همه سلول ها اسید آراشیدونیک ( $5\mu\text{M}$ ) به عنوان ماده زمینه و اصلی سنتز پروستاگلاندین ها اضافه کرده و مطابق روش درمانی خاصی که در پروتکل مربوطه در نظر گرفته بودیم و به طریق زیر آنها را تحت درمان با داروهائی نظیر دگزامتازون ( $1\mu\text{M}$ )، ملوکسیکام ( $1\mu\text{M}$ )، مهار کننده اختصاصی فعالیت آنزیم PGHS-II، ایندومتاسین ( $1\mu\text{M}$ )، مهار کننده اختصاصی آنزیم ۱-PGHS ( $1\mu\text{M}$ ) و سولفاسالازین ( $1\mu\text{M}$ )، مهارکننده اختصاصی آنزیم PGDH (Sigma Chemical Co) قرار دادیم (۱۹). پروتکل درمانی سلول ها به قرار زیر می باشد:

- A: Arachidonic acid ( $5\mu\text{M}$ )  
 B: Arachidonic acid ( $5\mu\text{M}$ )+Meloxicam( $1\mu\text{M}$ )  
 B': Arachidonic acid ( $5\mu\text{M}$ )+Indomethacin( $1\mu\text{M}$ )  
 C: Arachidonic acid ( $5\mu\text{M}$ )+Dexametason( $1\mu\text{M}$ )  
 D: Arachidonic acid ( $5\mu\text{M}$ )+Dexametason( $1\mu\text{M}$ )+Meloxicam( $1\mu\text{M}$ )  
 D': Arachidonic acid ( $5\mu\text{M}$ )+Dexametason( $1\mu\text{M}$ )+Indomethacin( $1\mu\text{M}$ )  
 E: Arachidonic acid ( $5\mu\text{M}$ )+Sulphasalazine( $1\mu\text{M}$ )  
 F: Arachidonic acid ( $5\mu\text{M}$ )+Sulphasalazine( $1\mu\text{M}$ )+Dexametason( $1\mu\text{M}$ )  
 G: Arachidonic acid ( $5\mu\text{M}$ )+Sulphasalazine( $1\mu\text{M}$ )+Dexametason( $1\mu\text{M}$ ) +Meloxicam( $1\mu\text{M}$ )  
 G': Arachidonic acid ( $5\mu\text{M}$ )+Sulphasalazine( $1\mu\text{M}$ )+Dexametason( $1\mu\text{M}$ ) +Indomethacin ( $1\mu\text{M}$ )  
 H: Arachidonic acid ( $5\mu\text{M}$ )+Sulphasalazine( $1\mu\text{M}$ )+Meloxicam( $1\mu\text{M}$ )  
 H': Arachidonic acid ( $5\mu\text{M}$ )+Sulphasalazine( $1\mu\text{M}$ )+Indomethacin( $1\mu\text{M}$ )

نتایج و داده های بدست آمده در این پروژه مورد بررسی آماری قرار داده شدند. تأثیر مجاورت داروها بر سلول های کشت داده شده جفت انسان تعیین گردیدند و نتایج حاصله را با استفاده از روش آماری One-way ANOVA و بکارگیری متد Tukey's Pairwise ارزیابی شدند. همچنین جهت تعیین تغییرات حاصله غلظت داروهای مورد استفاده در محیط کشت از روش آماری Student's *t-test* بهره جستیم. اختلافات فیما بین این داده ها با  $P < 0.05$  معنی دار تلقی گردیدند.

### نتایج:

ابتدا جهت بررسی دقیق تر پاسخگویی سلولی منحنی دوز پاسخ داروهای سولفاسالازین، ملوکسیکام و ایندومتاسین ثبت گردید. سولفاسالازین در دوز  $10^{-6}\text{M}$  بهترین تأثیر را در سلول های تروفوبلاست جفت ایجاد کرد. (نمودار ۱).



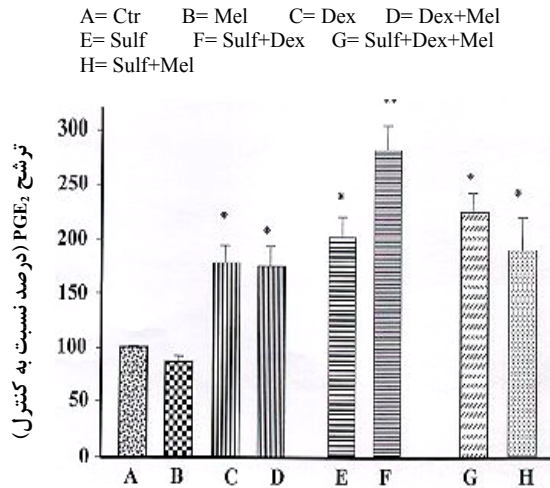
نمودار ۱: تأثیر سولفاسالازین بر ترشح PGE<sub>2</sub> توسط سلولهای تروفوبلاست جفت انسانی (n=6)

تأثیر مهاری ایندومتاسین در ترشح PGE<sub>2</sub> به مراتب قویتر از ملوکسیکام بود بطوریکه در دوز  $10^{-6}\text{M}$  تأثیر ایندومتاسین نسبت به ملوکسیکام بسیار بیشتر و اختلاف فیما بین آنها معنی دار بود ( $F=13.704$ ,  $P < 0.05$ ) (نمودار ۲).

ارزیابی پروستاگلاندین E<sub>2</sub> توسط روش RIA: پس از پایان دوره انکوباسیون، محیط کشت سلولها جهت تعیین مقدار PGE<sub>2</sub> مترشح با استفاده از روش رادیو ایمنونواسی (RIA) جمع آوری گردیدند. برای انجام این عمل از آنتی بادی پلی کلونال PGE<sub>2</sub> تهیه شده در خرگوش که با رقت ۱/۴۰۰۰ آماده شده بود استفاده شد

### ارزیابی پروستاگلاندین E<sub>2</sub> توسط روش RIA:

پس از پایان دوره انکوباسیون، محیط کشت سلولها جهت تعیین مقدار PGE<sub>2</sub> مترشح با استفاده از روش رادیو ایمنونواسی (RIA) جمع آوری گردیدند. برای انجام این عمل از آنتی بادی پلی کلونال PGE<sub>2</sub> تهیه شده در خرگوش که با رقت ۱/۴۰۰۰ آماده شده بود استفاده شد



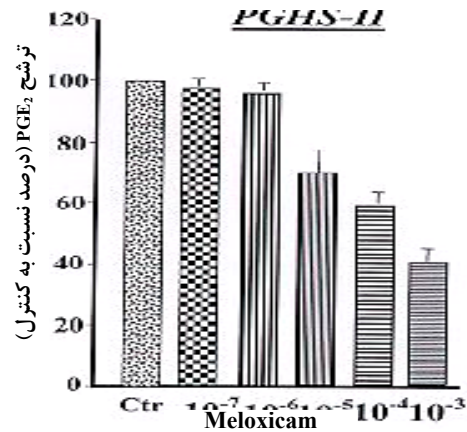
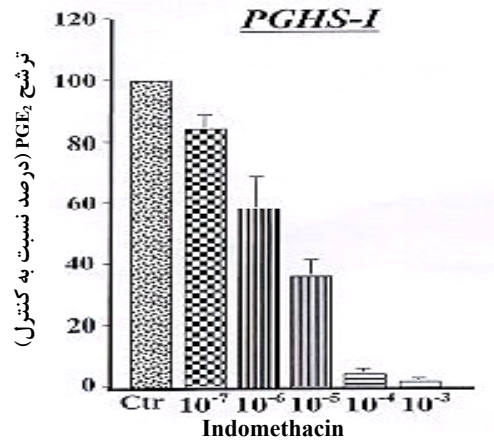
نمودار ۳: اثرات دگزامتازون و سولفاسالازین بر فعالیت آنزیم سیکلوآکسیژناز ۲ در سلولهای تروفوبلاست جفت انسانی (n=12)

۷ تا ۱۲ کشت مستقل جفتی تحت درمان با دگزامتازون (1µM)، ملوکسیکام (1µM)، سولفاسالازین (1µM) و یا مخلوطی از این مواد قرار گرفتند. تست One way ANOVA برای مقایسه بین گروهها مورد استفاده قرار گرفت.

\* نشان دهنده اختلاف معنی دار با  $P < 0.05$  می باشد.

\*\* نشان دهنده اختلاف معنی دار با  $P < 0.01$  می باشد.

در بررسی دیگری که با استفاده از ایندومتاسین به جای ملوکسیکام صورت گرفت مشخص گردید که تأثیر این دارو بر سلول های کشت شده جفت انسانی موجب مهار ترشح PGE<sub>2</sub> می گردد (هر چند اختلاف فیما بین معنی دار نبود). لیکن این مهار بسیار قویتر از تأثیر مهار ملوکسیکام در ترشح PGE<sub>2</sub> توسط سلول های مزبور نشان داده شد. در این گروه از آزمایشات تأثیر دگزامتازون بر ترشح PGE<sub>2</sub> با اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل در سلول های جفت همراه بود ( $F=15.716$ ،  $P<0.05$ ) سولفاسالازین به تنهایی و همچنین به همراه دگزامتازون موجب افزایش ترشح PGE<sub>2</sub> گردید و اختلافات حاصله با شدت بیشتری نسبت به گروه کنترل معنی دار گردید ( $F=19.802$ ،  $P<0.01$ ). استفاده از ایندومتاسین به همراه دگزامتازون و سولفاسالازین موجب کاهش ترشح PGE<sub>2</sub> در سلول های جفت گردید و کاهش ترشح رخ داده نسبت به گروه کنترل معنی دار بود ( $P<0.05$ ) لیکن اختلافات فیما بین این گروه و گروه دریافت کننده سولفاسالازین و



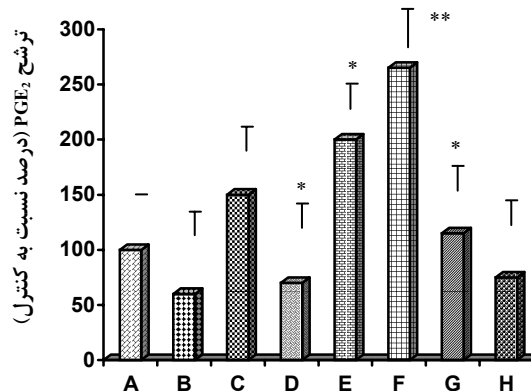
نمودار ۲: ترشح PGE<sub>2</sub> توسط سلولهای تروفوبلاست جفت انسانی پس از مهار آنزیمهای PGHS-I و PGHS-II (n=4)

دگزامتازون به تنهایی و یا همراه با ملوکسیکام تأثیر بسیار بالایی در ترشح PGE<sub>2</sub> گذاشتند و اختلافات آن نسبت به گروه کنترل و یا گروه دریافت کننده ملوکسیکام به تنهایی معنی دار بود ( $P<0.05$ )، همزمان دگزامتازون و سولفاسالازین سبب افزایش PGE<sub>2</sub> نسبت به گروه کنترل گردید ( $P<0.05$ ) و تأثیر تأثیرات (F=23.128) موجب افزایش ترشح PGE<sub>2</sub> بیشتر بطوریکه اختلافات فیما بین این تأثیرات ( $F=21.228$ ،  $P<0.001$ ) معنی دار شد. همچنین اختلافات فیما بین این گروه با گروه دریافت کننده سولفاسالازین+دگزامتازون+ملوکسیکام معنی دار بود ( $F=22.446$ ،  $P<0.05$ ) علاوه بر این تأثیر همزمان سولفاسالازین و ملوکسیکام نسبت به گروه کنترل معنی دار نشد و تنها این گروه در مقایسه با گروه دریافت کننده دگزامتازون+سولفاسالازین+ملوکسیکام اختلاف معنی داری را با ( $P<0.05$ ) نشان داد (نمودار ۳).

اصلی ترین پروستاگلاندین ساخته شده در آمینون PGE<sub>2</sub> می باشد که توسط آنزیمهای PGHS بوجود می آید (۲۸). آنزیم اصلی متابولیزه کننده پروستاگلاندینها PGDH می باشد که عمدتاً در غشاهای جنینی و سلول های تروفوبلاست کوریون قرار گرفته است (۲۹). این آنزیم سبب تنظیم مقدار پروستاگلاندین ها در بافت های جنینی - رحمی گردیده تا فعالیت های بیولوژیکی خواسته شده در آن بافت ها حفظ گردد (۳۰). پاتل و همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان دادند که کورتیزول بر فعالیت آنزیم PGDH اثر کرده و سطح PGDH mRNA سلولی را تنظیم مینماید. کورتیزول با مکانیسم مهار آنزیم PGDH مقدار غلظت PGE<sub>2</sub> را افزایش می دهد (۱۱). ویتل و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که دگزامتازون با اثر مهاری خود روی آنزیم PGDH موجب افزایش سطح PGE<sub>2</sub> در سلول های مزانشیالی و آمینونی کشت شده انسانی می گردد (۱۴). بری و همکاران در سال ۱۹۸۳ نشان دادند که سولفاسالازین که به عنوان دارویی مؤثر در درمان کولیت السراتیو کاربرد دارد، مهار کننده اختصاصی غیر رقابتی آنزیم PGDH بوده و بطور مستقیم با ترکیب با ساختمان شیمیائی آن موجب غیر فعال شدن آنزیم مزبور می گردد. (۲۰). همچنین در یک بررسی که توسط چلیس و همکاران در سال ۲۰۰۰ انجام گرفت نشان داده شد که هورمون CRH موجب کاهش فعالیت آنزیم PGDH در سلول های تروفوبلاست کوریون در یک وضعیت وابسته به دوز می گردد (۴). با توجه به بررسی های انجام شده قبلی انگیزه مطالعه حاضر بوجود آمد. در این بررسی تلاش گردید که در سلول های تروفوبلاست جفت انسان وضعیت ترشح و فعالیت آنزیم PGDH و همچنین اثر تعدادی از مهار کننده های آن و آنزیم های سیکلواکسیژناز مورد مطالعه قرار گیرد. همانطوریکه از نتایج بدست آمده برداشت می شود، مشخص گردید که سولفاسالازین به تنهایی و یا به همراه دگزامتازون مقدار ترشح PGE<sub>2</sub> را افزایش می دهد که این امر میتواند ناشی از مهار آنزیم PGDH در سلول های جفتی انسان باشد. لذا این یافته با نتایجی که دیگر محققان در سایر بافت های جنینی - رحمی بدست آورده بودند مطابقت دارد (۱۵، ۱۱، ۴). ملوکسیکام که مهار کننده اختصاصی آنزیم PGHS-II می باشد تأثیر قابل ملاحظه ای در سلول های تروفوبلاست انسانی

ایندومتاسین نسبت به گروه کنترل معنی دار نبود. در حالیکه این اختلاف نسبت به گروه دریافت کننده دگزامتازون معنی دار تلقی گردید (P<0.05) (نمودار ۴).

A= Ctr B= Ind C= Dex D= Dex+Ind  
E= Sulf F= Sulf+Dex G= Sulf+Dex+Ind  
H= Sulf+Ind



نمودار ۴: اثرات دگزامتازون و سولفاسالازین بر فعالیت آنزیم سیکلواکسیژناز ۱ در سلولهای تروفوبلاست جفت انسانی (n=12)

۵ تا ۱۲ کشت مستقل تروفوبلاستی تحت درمان با دگزامتازون (1 μM)، ملوکسیکام (1 μM)، سولفاسالازین (1 μM) و یا مخلوطی از این مواد قرار گرفتند. تست One-way ANOVA برای مقایسه بین گروهها مورد استفاده قرار گرفت. \* نشان دهنده اختلاف معنی دار با P<0.05 می باشد. \*\* نشان دهنده اختلاف معنی دار با P<0.01 می باشد.

## بحث:

پروستاگلاندین ها از فسفولیپیدهای غشاء سلول ها ساخته می شوند. این عمل از طریق اثر آنزیم فسفولیپاز A<sub>2</sub> و یا فسفولیپاز C که موجب تشکیل اسیدآراشیدونیک غیر استریفیه گردیده است صورت می پذیرد (۲۲، ۲۳). اسید آراشیدونیک سپس توسط آنزیم های پروستاگلاندین H-سینتاز (PGHS) که دارای هر دو فعالیت سیکلواکسیژناز و پراکسیداز می باشند متابولیزه شده و تبدیل به پروستاگلاندین ها (PGs) می شوند (۲۴، ۲۵). فعالیت آنزیم های PGHS بطور وسیعی توسط داروهای ضد تورمی غیر استروئیدی مهار می شود (۲۶). مطالعات انجام شده در بسیاری از گونه ها از جمله انسان مؤید این واقعیت است که در زمان زایمان افزایش پروستاگلاندین ها در اثر فعالیت آنزیم PGHS-II صورت می گیرد (۲۷). در مطالعه ای که توسط اولسون و همکاران انجام گرفت نشان داده شد که

غلظت آنزیم PGDH و تأثیر آن در میزان پروستاگلاندین  $E_2$  می تواند تا حدود زیادی مربوط به حضور گلوکوکورتیکوئیدها در بافتهای رحمی - جنینی باشد. این پدیده بطور مستقیم فعالیت آنزیم های سیکلوکسیژناز را تحت تأثیر قرار می دهد. مطالعات بعدی جهت بررسی اثرات متقابل گلوکوکورتیکوئیدها و هورمون های استروئیدی و تعیین نوع گیرنده های خاصی که در این تأثیرات مستقیم درگیر می باشند مورد نیاز می باشد تا مکانیسم های مولکولی که در این فعل و انفعالات مداخله می نمایند و در تنظیم پروستاگلاندین ها نقش دارند را شناسائی و روشن نماید.

#### منابع :

1. Mitchell MD. The mechanism(s) of human parturition. *J Dev Physiol* 1984;6:107-118.
2. Novy MJ, Liggins GC. Role of prostaglandins, prostacyclin, and thromboxane in the physiologic control in the uterus and parturition. *Semin Perinatal* 1980; 4: 45-65.
3. Loke YW, Whyte A, (eds). *Biology of Trophoblast*. New York: Elsevier, 1983.
4. Challis JRG., Matthews G.S, Gibb W, Ley JS. Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. *Endocrine Rev* 2000; 21(5): 514-550.
5. Sun K, Yang K, Challis JRG. Differential regulation of  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and 2 by nitric oxide in culture human placental trophoblast and chorionic cell preparation. *Endocrinology* 1997; 138: 4912-4920.
6. Zakar T, Olson DM. Dexametasone stimulates arachidonic acid conversion to prostaglandin  $E_2$  in human amnion cells. *J Dev Physiol* 1989; 12:269-272.
7. Whittle WL, Holloway AC, Ley SJ, Gibb W, Challis JRG. Prostaglandin production at the onset of ovine parturition in regulated by both estrogen- independent and estrogen dependent-pathways. *Endocrinology* 2000; 141(10):3783-91.
8. Challis JRG, Cox DB, Sloboda DM. Regulation of corticosteroids in the fetus: Control of birth and influence on adult disease. *Semin Neonatal* 2000; 4: 93-97.

نشان نداد و تغییرات معنی داری در ترشح  $PGE_2$  ایجاد نکرد. تصور می شود که در سلول های تروفوبلاست جفت انسانی فعالیت یا ترشح آنزیم PGHS-II چندان قابل ملاحظه نباشد. از طرفی با تأثیر ایندومتاسین بعنوان مهار کننده اختصاصی آنزیم PGHS-I در سلول های کشت شده جفت انسان مشاهده گردید که از میزان ترشح  $PGE_2$  به میزان قابل ملاحظه ای کاسته شد لذا چنین استنباط می گردد که ترشح  $PGE_2$  در سلول های مزبور وابستگی شدیدی به حضور یا فعالیت آنزیم PGHS-I دارد. به عبارت دیگر تصور می شود که ترشح پایه ای  $PGE_2$  توسط سلول های تروفوبلاست جفت انسان بیشتر توسط آنزیم PGHS-I صورت می گیرد تا آنزیم PGHS-II. تأثیر سولفاسالازین در سلول های کشت شده، نشان دهنده اهمیت قدرت تنظیمی آنزیم PGDH مترشحه توسط سلول های مزبور در برون ده  $PGE_2$  می باشد. با توجه به مطالعات پاتل و همکاران در ارتباط با اثر گلوکوکورتیکوئیدها در سلول های کوریون که نشان داده شد کورتیزول میزان ترشح و فعالیت آنزیم PGDH را بطور معنی داری در سلولهای کشت داده شده کوریون و جفت کاهش می دهند. همچنین اثر پروژسترون در سلول های مزبور موجب افزایش ترشح  $PGE_2$  و  $PGF_2\alpha$  میگردد. اینکه مکانیسم تأثیر پروژسترون میتواند نظیر گلوکوکورتیکوئیدها باشد دقیقاً معلوم نیست (۱۹). نکته قابل اهمیت در این قسمت این است که تداخل اثرات سولفاسالازین، دگزامتازون و ملوکسیکام در برون ده  $PGE_2$  توسط سلول های تروفوبلاست جفت انسانی تحریک شده با گلوکوکورتیکوئیدها، ممکن است ناشی از تنظیم افزایشی آنزیم های PGHS-I و PGHS-II ویا کاهش فعالیت آنزیم PGDH باشد و شاید این موارد همزمان سبب چنین تغییراتی در سلول های یاد شده می شود. از آنجائیکه حضور پروستاگلاندین ها در بافت های رحمی - جفتی میتواند انقباض پذیری عضلات میومتر را در پی داشته باشد (۸،۷)، تأثیر گلوکوکورتیکوئیدها و یا مهار کننده های اختصاصی آنزیم PGDH تسهیلات لازم و یا اثرات مربوطه دیگری را در پدیده زایمان ایجاد می نماید (۱۱،۴،۱).

بنابراین و با توجه به مواردیکه ذکر گردید تصور می کنیم که در شرایط فیزیولوژیک فعالیت و یا افزایش

9. Skinner KA, Challis JRG. Changes in synthesis and metabolism of prostaglandins by human fetal membranes and decidua at labor. *Am J Obstet Gynecol* 1985 ; 151: 519-523.
10. Xu XM, Hajibeige A, Tazawa RL, Mitchell D, Want LH, et al. Characterization of human prostaglandin H synthase gene, In: Samuelsson B, Paoletti R(eds). *advances in prostaglandin, thromboxane, and leukoteriene research*. New York :Raven , 1995: 105-107.
11. Patel FA, Chwalisz K, Challis JRG. Regulation of prostaglandin dehydrogenase (PGDH) activity by cortisol and progesteron may involve paracrine/autocrine intraction and effects on levels of PGEH mRNA. Program of the 45<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for Gynecologic Investigation, 1998(Abstract 136).
12. Gibb W, Lavoie JC. Effect of glucocorticoids on prostaglandin formation by human amnion. *Can J Physiol Pharmacol* 1990;68:671-676.
13. Challis JRG, Patel FA, Pomini F. Prostaglandin dehydrogenase and the initiation of labor. *J Perinat Med* 1999; 27:26-34.
14. Whittle WL, Gibb W, Challis JRG. The characterization of human amnion epithelial and mesenchymal cell culture ;the cellular expression activity and glucocorticoid regulation of prostaglandin synthesis. *Placenta* 2000 ; 21:894-901.
15. Zakar T, Hirst JJ, Mijoric JE, Olson DM. Glucocorticoids stimulate the expression of prostaglandin endoperoxide H synthase-2 in amnion cells. *Endocrinology* 1995 ; 136:1610-1619.
16. Murotsuki J, Challis JRG, Gagnon R. Increased fetal plasma prostaglandin E2 concentration during fetal embolization in pregnant sheep. *Am J Obstet Gynecol* 1995 ;173:30-35.
17. Nakla S, Skinner K, Mitchell BF, Challis JRG. Changes in prostaglandin transfer across human fetal membranes obtained after spontaneous labor. *Am J Obstet Gynecol* 1986 ; 155:1337-1341.
18. Economopoulos P, Sum M, Purgina B, Gibb W. Glucocorticoids stimulate prostaglandin H synthase type-2(PGHS-2) in the fibroblast cells in human amnion cultures. *Mol Cell Endocrinol* 1996 ; 117:141-147.
19. Patel FA, Clifton VL, Chwalisz K, Challis JRG. Steroid regulation of prostaglandin dehydrogenase activity and expression in human term placenta and chorio-decidua in relation to labor. *J Clin Endocrinol Metabol* 1999; 84:291-299.
20. Kliman JH, Nestler EJ, Sermasi E, Sanger MJ, Strauss IIIJF. Purification , characterization and in vitro differentiation of cytotrophoblast from human term placenta. *Endocrinology* 1986 ; 118(4):1567-1582.
21. Berry CN, Hout JRS, Peers SH, Agback H. Inhibition of prostaglandin 15-hydroxydehydrogenase by sulphasalazine and a novel series of potent analogues. *Biochemical Pharmacology*. 1983 ; 32(19): 2863-2871.
22. Clark JD, Lin LL, Kriz RW, Ramesha CA, Sultzman LA, et al. A novel arachidonic acid-selective cytosolic PLA2 contains a Ca<sup>2+</sup> dependent translocation dominwith homology to PKC and GAP. *Cell* 1991 ; 65: 1043-1051.
23. Skannal DG, Eis ALW, Xue S, Siddiqi TA, Myatt L. Changes in activity of cytosolic phospholipase A2 in human amnion at parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1997 ; 177:179-184.
24. Smith WL, De Witt DL. Prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and -2. *Adv Immonol* 1996 ; 62:167-215.
25. Smith WL, Garavito RM, De Witt DL. prostaglandin endooeroxidas H synthase (cyclooxygenase)-1 and -2. *J Biol Chem* 1996 ;271:33157-33160.
26. Baguma-Nibasheka M, Nathanielsz PW. In vitro administration of nimesulide , a selective PGHS-2 inhibitor, increase in vitro myometrial sensitivity to prostaglandins while lowering sensitivity to oxytocin. *J Soc Gynecol Invest* 1998 ; 5:296-299.

27. Tazawa R, Xu XM, Wu KK, Wang LH. Characterization of the genomic structure, chromosomal location and promoter of human prostaglandin H synthase-2 gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1994 ; 203:190-199.
28. Olson DM, Skinner K, Challis JRG. Prostaglandin output in relation to parturition by cells dispersed from human intrauterine tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 1983 ; 57:694-699.
29. Schlegel W, Demers LM, Hildebrandt-Stark HE, Behrman HR, Greep RO. Partial purification of human placental 15-hydroprostaglandin dehydrogenase: kinetic properties. *Prostaglandins* 1974 ; 5:417-433.
30. Okazaki T, Casey ML, Okita JR, MacDonald PC, Johnston JM. Initiation of parturition. XII, biosynthesis and metabolism of prostaglandin in human fetal membrane and uterine decidua. *Am J Obstet Gynecol* 1981 ; 139: 373-381.