تأثیر بینتید و گلیکان-لیپولی ساکارید بر میزان تولید نتپریک اکساید توسط سلول‌های بنیادی مراتشیمال
موش

الهام دارابی*، احمد محرزی، نوروز دالیر، امیر توکمچی، آرام مکاریزاده

تاکنون تولید نتپریک اکساید توسط سلول‌های بنیادی مراتشیمال (MSC) در سلول‌های T فعال شده توسط این سلول‌ها

چکیده
پیش زمینه و هدف: سلول‌های بنیادی مراتشیمال، سلول‌های بالغ و هستند که به عنوان سلول‌های پیش‌ساز غیر خون ساز و چند توانایی معرفی می‌شوند. تحقیق و پژوهش در حوزه تولید نتپریک اکساید توسط سلول‌های بنیادی مراتشیمال به‌طور مستقیم را به‌صورت کوه‌زنی‌های مراحل تشخیصی با

مدت و روش کار: از استخوان‌های پوستی سوسپانسیون سلول‌های تلاش و شیشه تولید کننده جداسازی سلول‌های بنیادی مراتشیمال بر اساس به

چسبیدن به فلسفه کمتر گرفتن یک از سلول‌های موجود توزیع (۱۰۰:۱) با نمونه TLR7 در دو گروه (A: TLR7) و (B: TLR4) در نمونه TLR4

یافته‌ها: ها که در دور پایین (کانکورت) به (۱۰۰:۱) در نمونه TLR7 با نمونه TLR4 در جزایر شدن مقدار داده که همچنین افزایش می‌یابد در دو گروه %۰.۰۵)

بحث و نتیجه گیری: از پژوهش حاصل می‌توان به نتیجه گرفت دوگانه TLR7 و مدت زمان تولید سلول‌های بنیادی با آن می‌تواند تأثیرات مختلفی در فعالیت TLR4 و تولید نتپریک اکساید باشد

واژه‌کلیدی: TLR4، سلول‌های بنیادی مراتشیمال، ایپونئو، نتپریک اکساید

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و چهارم، شماره دوازدهم، ص ۱۹۹۰-۱۹۹۹، اسفند ۱۳۹۲

آدرس مکاتبه: پژوهشگر میکروب شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه - ارومیه، دانشگاه تربیت مدرس، تلفن: ۰۴۶۱۱۹۹۹۹۹۹، Email: elidarabi@ymail.com

مقدمه
سلول‌های بنیادی مراتشیمال جمعیت کبیبی از سلول‌های

بنیادی بالغ غیر خون توزیع می‌شوند که از پاف‌های

همبند تقریباً تمایل ارگان‌ها و جمله و مصرف و

بهره خاصی دارد). این سلول‌های ناپایدار به خصوص کوچکی

از سلول‌های هستن در مراحل استخوان تا سلول‌های هستن که در توان

خاصیت‌های توانایی نسبت می‌تواند به سلول‌های توانایی توانایی

منفی از سلول انتقال هم‌پای (۳)


کارشناس ارشد، بخش میکروب شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه (نویسنده سرول) ۱

دانشیار، بخش میکروب شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه ۲

استاد، بخش میکروب شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه ۳

دانشیار، دانشگاه پژوهشکده آریان آزمایشی دانشکده ارومیه ۴

دانشجوی دکتری، بخش میکروب شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه ۵

۹۹۹
مطالعات متعدد حاکی از این است که سلول‌های بی‌مانی مزاتشیما را سطح فیلمی از فاکتور مولکول‌های حاوی پیچ، بی‌مانی پنیده یا تخفیف می‌کنند تا از سلول‌های همه‌پرست‌های بی‌مانی‌های مختل عامل سلول‌های بی‌مانی را کنار بگذارند. بنابراین، PGE2, INDO, NO, TGF-β1 و TLR می‌توانند ترکیبات دیوار شاخه مجتمع سلولی (مانند پروتين‌ها و پروتئین‌های داخل سلولی) و مولکول‌های دیوار شاخه (مانند پروتئین‌های هموگلوبین و پروتئین‌های داخل سلولی) را ترمیم و تغییر سلول‌های آسیب‌دیده و یا در پایین به عواقل بیولوژیکی عمل می‌کنند. همچنین، نتایج تحقیق زیر نشان دهنده‌های استحکام و تنش در این سلول‌ها بی‌مانی مانند سلول‌های بی‌مانی تولید می‌گردد.

1. Peptidoglican-lipopolysaccharid
2. Fetal bovin serum
3. Dulbecco's Modified Eagle Medium

در این تحقیق، 92 سونهای بی‌مانی مزاتشیما بالغ بر 20 روز متوالی بر روی سطح پلی‌اکریلیت مورد بررسی قرار گرفته و سایر عوامل ایمنی در سلول‌های بی‌مانی را ارزیابی کرده‌اند. نتایج آماری و هوشمندی سیستم مزاتشیما توسط TLR2 و TLR4 و همچنین ترکیبات دیوار شاخه مجتمع سلولی و مولکول‌های دیوار شاخه به بهبود عملکرد سلول‌های بی‌مانی مانند سلول‌های بی‌مانی تولید می‌گردد.

مواد و روش‌ها:

1. سلول‌های بی‌مانی مزاتشیما:
   - 40 سونهای بی‌مانی مزاتشیما بالغ بر 20 روز
   - 30 سونهای بی‌مانی مزاتشیما بالغ بر 20 روز
   - 20 سونهای بی‌مانی مزاتشیما بالغ بر 20 روز

2. نیکل‌تتراتراکسیتیل (Tetrakis-[2]Gibco
3. سوپلی‌سیستم (SFM) - Sigma-Aldrich
4. گسته‌سازی (Jetbiofil) توسط T25 و آنلاین
5. پروتئین‌های داخل سلولی (مانند پروتئین‌های داخل سلولی)
6. پروتئین‌های دیوار شاخه (مانند پروتئین‌های هموگلوبین و پروتئین‌های داخل سلولی)
7. TLR2 و TLR4 و همچنین ترکیبات دیوار شاخه مجتمع سلولی و مولکول‌های دیوار شاخه به بهبود عملکرد سلول‌های بی‌مانی مانند سلول‌های بی‌مانی تولید می‌گردد.
درجه سطحگرایی با فرد صدای نگه داشته شده، بعد از آن، زمان اگوش بدن این تیریک که در تیپ تیریک مغز سلولی سلولهای دیگر گردیده و ممنوع تحت تیریک اکساپیده بیش از انواع دیگر سلولهای حسی و سلولهای حساسیتی P- گلیکان PHA، با TLR

سنجه تیریکی اکساپیده با کولینریز

بعد از ۷۲ ساعت سلولهای T-موجود در مایع روی سلولهای بنیادی مراقبتی جمع آوری و به مدت ۱۰ دقیقه با دوران ۱۴۰۰ سانتریفژ شدند. تعادل آن سلولهای T به داخل هر لوله فعال شد و به آنها اضافه شد. Anti-CD۴ تیریکی دیگر اکنوکه شد. در کلیه در تیریکی و دمای ۴ درجه سطحگرایی نگه داشته شد. تیریکی دیگر اکنوکه شد. به مدت ۲۰ دقیقه اکنوکه بیش از انواع دیگر P-I-دوست پاپسانتوفری میزان اپیتکس سلولهای T اندزه گیری (۷۲)

اندازه گیری تیریکی اکساپیده با کولینریز

نتایج بررسی میکروپسیوی مولکولی سلولهای بنیادی مراقبتی به طور روزانه فلورسنس با مکروپسیوی مکروپسیوی وارد گردن سلولهای تیریکی گرفته شده و مربوط به گرزش پاپسانتوفری میزان پاپسانتوفری و دمای روی سلولهای بنیادی مراقبتی با مکروپسیوی سلولهای دیگر شکل بیشتر می‌گردد در پاساژ سوم کنت سلولی به دست آمده (تصویر۱).
بودند به عنوان کنترل در نظر گرفته شد.

جدول (1): تغییرات آبیورنژ و تکرم با استفاده از AO و PI

<table>
<thead>
<tr>
<th>نوع سلول</th>
<th>AO</th>
<th>PI</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>زنده</td>
<td>منفی</td>
<td>منفی</td>
</tr>
<tr>
<td>اپیتروکین اولایین</td>
<td>منفی</td>
<td>منفی</td>
</tr>
<tr>
<td>اپیتروکین نهایی</td>
<td>منفی</td>
<td>منفی</td>
</tr>
<tr>
<td>تکروم</td>
<td>منفی</td>
<td>منفی</td>
</tr>
</tbody>
</table>

نتایج حاصل از سنجش میزان آبیورنژ التا شده در سلول‌های 

روش رنگ آمیزی Acridin- orange/PI

در این آزمایش درصد آبیورنژ سلولی تعبیه گردید. به عنوان

تربیت که در طی آبیورنژ فسیتوتیک سربین از سطح داخلی غشا به

Acridin- orange سلولی مربوط شده و

فسیتوتیک سربین موقعیت در سطح خارجی غشا متصول شده.

نیز به توسط دستگاه فلوسیتوتری مشخص داده می‌شود. 

توجه می‌شود منحنی DNA قطعه قله شده سلول‌های مرده متصول شده

و توسط دستگاه فلوسیتوتری قابل تشخیص خواهد بود.

در این چا سلول‌های رنگ شده با

Acridin-orange (p≤0.05) فاصله‌ای معنی‌داری در درصد آبیورنژ سلول‌های

می‌باشد. هنگامی که با استفاده از أورنژ به درصد تکرم شده

Acridin- orange و مدت زمان 

12 ساعت در مقابل با گروه کنترل مشاهده شد.

نمودار الگو سنجش آپیتروکین سلول Tک در دو رنگ بالا (3 و 0.1 نگ/ml) و پایین (1 و 0.1 نگ/ml) 

گلیکان-لیپوزوم ساکارید در زمان 12 ساعت

بینت و گلیکان-لیپوزوم ساکارید در زمان 10 و 12 ساعت

انگیزه‌های بالا و پایین درصد آپیتروکین (P≤0.01) 

در دور 5 نانومتر، ایمنی و در 12 ساعت گرانتولسوم نسبت به گروه کنترل مشاهده شد.

نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح P≤0.05 

FSC

SSC

Granulocytes

Monocytes

Lymphocytes

نگاره (1): پیوستگی فلوسیتوتری جهت بررسی سلول‌های T می‌باشد. 

فراوانی سلول و محور افقتی (FSC) و میزان سلول و مرحله‌ای (SSC)
نتایج حاصل از سنجش تریتیک اکسید
نتایج به دست آمده از تست گریس حاکی از آن یکد یک روابط بیشترین تریتیک اکسید (14/10 ng/ml) در مهای روبی سولن‌های بندایی مزان‌شمارشی تبم‌ر شده با دوّ (100) و در مدت زمان 1 ساعت اکوسپن نسبت به گروه کنترل نشان داد. نتایج بخش افتتاحی معنی‌دار در سطح 0:10/1/0 پی باشند.

بحث
سلول‌های بندایی مزان‌شماره به عناوین سولن‌های پش ساز

نگون‌ساز و چند توانی معرفی می‌شود که در طی وسیعی از بافت‌های بالغ بدتریف می‌شوند و یزد‌گی شانس این سولن‌ها پیش‌تر با تبدیل شدن در سطح آزمایشگاهی که منجر به بهتر آزمایشگاهی پیش‌تر می‌گردد (باشند 24) TLR های باکتری‌های ایمن بیان شده در سطح سلول‌های بندایی مزان‌شمارشی می‌باشد که می‌تواند می‌تواند طوی وسیعی از عملکدهای سولن را تحت‌الشعاع فرا دهند.
آگونیست TLR4 در همکاران در سال 2008 نشان دادن که نه تکرار TLR4 می‌تواند بیشتر سلول‌های بنیادی مارشالی را از افزایش فاکتورهای تهیه کننده حساسیت نشان دهد که در مورد افزایش حساسیت تئیا نشان داشته است. TLR4 مخصوصاً در سال 2010 نشان دادن که تکرار TLR4 می‌تواند تهیه‌کننده ایمنی همکاری را به سلول‌های بنیادی مارشالی را وارد سلول‌ها به طریق چرخ‌گیری می‌تواند منجر به افزایش تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروبیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروفیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود. 

به علاوه با توجه به وابستگی بیشتری که در طول حرکت تهیه‌کننده تهیه‌کننده ایمنی در میکروفیت قلبی روده، و طی شرکت گزارش‌های فعالیت بیشتری که باعث تاثیر تهیه‌کننده سلول‌های ایمنی می‌شود.
سولو海尔 بييادي مترسانه، روند افزایش الگه آپوپتوزس در لنفوسبسته های T، همبستگی این الگه را با ورود تغییرات غلاف نیتروپپتیک اکسید متضمنه از این سولوهره نشان دهنده بارزی‌ترين تصور می‌شود که این سولوهل، یک نوع مستقل از NO در آن الگه آپوپتوزس T، کیکر می‌گردد.

نتیجه گیری

در نهایت می‌توان چنین نتیجه‌گرفت که تحریک‌های TLR در سطح سولوهل بييادي مترسانه مرحله با دور مناسب آن که به طور مواجه آن سولوهل مترسانه در invitro آتیست و مدت نمایش آن سولوهل مترسانه در

References:

16. Bunnell BA, Betancourt AM, Sullivan DE. New concepts on the immune modulation mediated by
mesenchymal stem cells. Stem Cell Res Ther 2010;1(5):34.

17. Liotta F, Angeli R, Cosmi L, Fili L, Manuell C. Toll-like receptors 3 and 4 are expressed by human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and can inhibit their T-cell modulatory activity by impairing Notch signaling. Stem Cells 2008; 26: 279–89.


EFFECT OF PEPTIDOGLYCAN-LIPOLYSACCHARIDE ON NITRIC OXIDE PRODUCTION BY RAT MESENCHYMAL STEM CELL (MSC) AND INDUCTION OF APOPTOSIS IN ACTIVATED T CELL WITH MSC

Elham Darabi1*, Ahmad Morshedi2, Norouz Delirezh3, Amir Tokmechi4, Aram Mokarizade5

Received: 24 Aug, 2013; Accepted: 5 Dec, 2013

Abstract

Background & Aims: Mesenchymal stem cells (MSCs) are adult cells which are identified as non-hematopoietic and pluripotent stem cells. Specific stimulation of toll like receptors on the surface of mesenchymal stem cells could change immune responses of these cells into the pro or anti-inflammation phenotype. The aim of this study was to evaluate the effect of peptidoglycan-lipopolysaccharide on the polarization of stem cells into the anti inflammation phenotype and apoptosis induction in T cells.

Materials & Methods: MSCs were isolated from the femoral and tibial bone marrow and re-suspended in DMEM media, and kept in 5% CO2 incubator at 37°C for 24 hours. After that the cell concentration reached to 70 % treated with toll like receptor’s agonist with high (10 ng/ml) and low (5 ng/ml) doses for 1 and 12 hours. Then supernatant of cell culture flask were collected for nitric oxide measurement. Apoptosis percentage in T cells was assayed by flowcytometry in the presence of Acridine orange/propidium iodide (AO/PI).

Result: The percentage of apoptosis in activated T cells significantly (P<0.05) was higher in long term (12 h) and low dose (5 ngr/ml) treatment with TLR4 agonist than the control. Also, the finding indicated that the nitric oxide production significantly (P<0.05) was higher at short term (1 h) and high dose (10 ngr/ml) of TLR agonist in comparison to the control.

Conclusion: It should be concluded that the amount of agonist and duration of treatment in stem cells can affect the apoptosis activity and nitric oxide production in MSCs.

Keywords: Toll like receptor’s agonist, Mesenchymal stem cell, Apoptosis, Nitric oxide

Address: Microbiology Department, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran
Tel: +98 9371990244
Email: elidarabi@ymail.com


1 MSc, Microbiology Department, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Author)
2 Associate Professor, Microbiology Department, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran
3 Assistant Professor, Microbiology Department, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran
4 Assistant Professor, Pathobiology & Quality Control Department, Artemia & Aquatic Animal Research Institute, Urmia University, Urmia, Iran
5 PhD Candidate, Microbiology Department, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran