

تأثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمال مشتق از مغز استخوان همجوار با ویتامین D3، بر عملکرد نوتروفیل‌های خون محیطی در رت

هادی اسمعیلی گورچین قله^۱، نوروز دلیرز^۲، سیدمیثم ابطحی فروشانی^{۳*}، ناهیده افضل آهنگران^۳

چکیده

زمینه و هدف: در مطالعات پیشین به ارتباط متقابل بین سلول‌های نوتروفیل و سلول‌های بنیادی مزانشیمال اشاره شده است. از طرفی، به نظر می‌رسد ریزمحیطی که سلول‌های بنیادی مزانشیمال در آن قرار گرفته‌اند می‌تواند بر وضعیت سلول‌های نوتروفیل مرتبط با آنها مؤثر باشد. تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمال مشتق از مغز استخوان همجوار با 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 بر روی قابلیت‌های نوتروفیل‌ها انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه ابتدا پس از جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمال از مغز استخوان رت‌ها، اقدام به مجاورسازی سلول‌های مزبور با ویتامین D3 در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ نانومولار به مدت زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت شد. سپس سلول‌های مزبور با سلول‌های نوتروفیل به مدت یک ساعت مجاور شدند. در ادامه، قابلیت فاگوسیتوز با مخمر اپسونیزه، شدت انفجار تنفسی به کمک تست احیا (NBT) و میزان زنده‌مانی به شیوه رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج/ پروپیدیوم یدید در نوتروفیل‌ها ارزیابی شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست Dunnett تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: قابلیت فاگوسیتوز سلول‌های نوتروفیل در همه تیمارها و در غلظت حداقل ۱۰۰ نانومولار معنی‌دار بود. شدت انفجار تنفسی همه تیمارها در غلظت حداقل ۵۰ نانومولار به بعد، اختلاف معنی‌داری را نشان داد. همچنین ویتامین D3 در غلظت حداقل ۵۰ نانومولار منجر به افزایش قابلیت سلول‌های بنیادی مزانشیمال در حفظ بقای سلول‌های نوتروفیل شد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: در مجموع به نظر می‌رسد تیمار سلول‌های بنیادی مزانشیمال مغز استخوان با ویتامین D3 موجب تقویت عملکرد سلول‌های مزانشیمال در افزایش بقا، قابلیت فاگوسیتوز و انفجار تنفسی سلول‌های نوتروفیل می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: سلول‌های بنیادی مزانشیمال؛ کالی کلسیفرول؛ نوتروفیل‌ها.

^۱ دانشجوی دکتری ایمنی‌شناسی،
دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه،
ارومیه، ایران.

^۲ دانشیار ایمنی‌شناسی، دانشکده
دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه،
ایران.

^۳ استادیار ایمنی‌شناسی، دانشکده
دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه،
ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات:

سیدمیثم ابطحی فروشانی، دانشکده
دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه،
ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
meysamabtahi@hotmail.com

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Esmaili Gourvarchin Galeh H, Delirezh N, Abtahi Froushani SM, Afzale Ahangaran N. The effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells pulsed with Vitamin D3 on the function of peripheral blood neutrophils in rat. Qom Univ Med Sci J 2014;8(5):1-8. [Full Text in Persian]

تاریخ دریافت: ۹۲/۷/۲۳

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۲۲

مقدمه

سلول‌های بنیادی مزانشیمال (Mesenchymal Stem Cells)، گروهی از سلول‌های پیش‌ساز غیرخون‌ساز هستند که قابلیت تمایز به انواع سلول‌های بافت‌هایی از قبیل استخوان، غضروف، تاندون، بافت چربی و سلول‌های عضله صاف را دارند. سلول‌های مزبور، جمعیت هتروژن و بسیار کوچکی شامل ۰/۰۱-۰/۰۰۱ درصد سلول‌های هسته‌دار مغز استخوان را تشکیل می‌دهند (۱). سلول‌های بنیادی از قبیل سلول‌های بنیادی مزانشیمال به دلیل دارا بودن ویژگی‌های تعدیل‌کننده ایمنی به‌صورت بالقوه در جهت تخفیف بیماری‌های ناشی از پاسخ‌های التهابی سلول‌های ایمنی در برخی از بیماری‌ها از قبیل دیابت نوع ۱، آرتریت روماتوئید و اسکروز متعدد، مورد توجه قرار گرفته‌اند (۲). مهم‌ترین فاکتورهای سرکوب‌کننده ایمنی این سلول‌ها شامل برخی از مولکول‌های مهاری بیان‌شده در سطح آنها از قبیل (Galectins، HLA-G، TGF- β ، PDL1)، برخی سایتوکاین‌های ضدالتهابی مانند (TGF- β ، IL-10)، برخی متابولیت‌ها از قبیل (PAG 2، IDO، Nitric Oxide) و برخی از آنزیم‌های مهارکننده مانند (ماتریکس متالوپروتینازها) می‌باشند که به‌صورت پاراکرین و یا تماس مستقیم سلول به سلول، اثرات خود را بروز می‌دهند (۴-۲). نوتروفیل‌ها ۷۰-۵۰٪ جمعیت لکوسیت‌ها را تشکیل داده و نقش اصلی را در حذف پاتوژن‌های القایی التهاب حاد بازی می‌کنند. این سلول‌ها سطح بالایی از پروتئازها و رادیکال‌های آزاد اکسیژن را تولید کرده و دارای نقش مهمی در دفاع و آسیب به سلول‌های میزبان در حین فرآیندها هستند. بنابراین، حفظ هموستاز نوتروفیل‌ها بسیار مهم است (۵). نشان داده شده است سلول‌های مزانشیمال انسانی موجب حفاظت نوتروفیل‌ها از مرگ ناشی از محرومیت سرم می‌شود (۶). گزارشهای متعددی نشان داده است ویتامین D3 در تعدیل پاسخ‌های ایمنی، نقش مهمی برعهده دارد (۷). در جوامعی که غذاهای سرشار از ویتامین D مصرف می‌کنند شیوع بیماری‌های خودایمن نیز کمتر بوده که این خود شاهدی بر خاصیت تعدیل ایمنی توسط ویتامین D3 و ارتباط آن با سیستم ایمنی می‌باشد (۷، ۸). در مطالعات گذشته به اثرات ضدتکثیری، ضدآپوپتوزی ویتامین D3 1 α , 25-dihydroxyvitamin روی سلول‌های بنیادی مزانشیمال اشاره شده است (۹، ۱۰).

با این وجود، مطالعات چندانی در ارتباط با نقش ویتامین D3 1 α , 25-dihydroxyvitamin در شکل‌دهی عملکرد سلول‌های بنیادی مزانشیمال بر روی نوتروفیل‌ها صورت نگرفته است. در این تحقیق پس از جداسازی سلول‌های مزانشیمال مغز استخوان و تیمار آنها با 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3، به ارزیابی اثرات این سلول‌ها روی قابلیت‌های سلول‌های نوتروفیل خون محیطی رت پرداخته شد.

روش بررسی

سلول‌های بنیادی مزانشیمال از مغز استخوان‌های تیبا و فمور رت‌های نژاد ویستار مطابق روش Zappia و همکاران، جداسازی شد (۱۱). رت‌های مزبور از حیوانخانه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه گردید. تمامی مراحل این تحقیق در کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه ارومیه مورد تأیید قرار گرفت. در این مطالعه ابتدا اقدام به فلاشینگ مغز استخوان‌های مزبور به کمک محیط کشت DMEM (ساخت Gibco - انگلستان) شد، سپس سلول‌های حاصله پس از ۲ بار شستشو، با غلظت 4×10^5 سلول به ازای هر سانتی‌متر مربع به فلاسک‌های کشت T25 حاوی محیط کشت DMEM و ۱۰ درصد FBS (ساخت Gibco - انگلستان) منتقل شدند. سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و حضور ۵٪ دی‌اکسید کربن در گرمخانه، گرماگذاری شدند، سپس سلول‌های غیرچسبنده حذف و کشت سلول‌های چسبنده ادامه یافت. تعویض محیط کشت هر ۲ روز یک‌بار انجام گرفت و پس از اولین تراکم بیش از ۷۰٪، سلول‌های چسبنده با استفاده از تریپسین (Sigma Aldrich American) حاوی ۲ درصد EDTA از کف فلاسک جداسازی و جهت پاساژ به فلاسک‌های بعدی منتقل شدند. در نهایت، از پاساژ سوم سلول‌ها جهت انجام آزمایشهای مجاورسازی با نوتروفیل‌ها استفاده گردید (۱۱). ۷-۱۰ روز پس از پاساژ سوم، سلول‌های بنیادی مزانشیمال مغز استخوان با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ نانومولار 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 (Biomole - آلمان) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. از سلول‌های بنیادی مزانشیمال تیمارنشده به‌عنوان گروه کنترل استفاده گردید. هر آزمون ۱۰ بار تکرار شد.

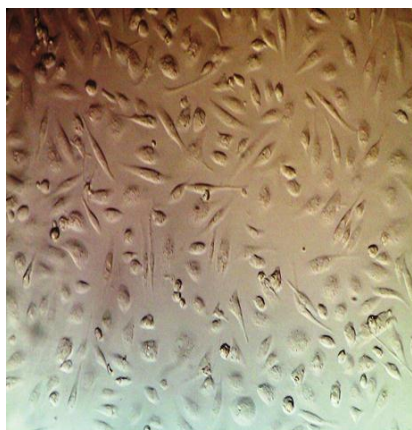
سلول‌های نوتروفیل از خون محیطی رت‌ها به کمک مگلو مین کامپاند (ساخت شرکت داروپخش- تهران) جداسازی شد (۱۲). سپس تعداد 5×10^6 سلول نوتروفیل به همراه ۵ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM و ۱۰ درصد FBS به داخل فلاسک حاوی سلول‌های بنیادی مزانشیمال مغز استخوان اضافه گردید و به مدت یک‌ساعت انکوبه شد. بعد از گذشت یک‌ساعت مایع رویی داخل فلاسک که حاوی سلول‌های نوتروفیل بود جمع‌آوری و به مدت ۵ دقیقه در 1200 دور سانتریفوژ شد. پلت سلولی جهت انجام تست‌های تکمیلی به‌صورت سوسپانسیون درآمد.

سوسپانسیون سلولی به تعداد 2×10^6 سلول بر میلی‌لیتر از سلول‌های نوتروفیل تهیه گردید. این سلول‌ها در پلیت‌های کشت ۹۶ خانه به مدت یک‌ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد و دی‌اکسیدکربن 5% در حضور مخمر اپسونیزه (۱۳)، انکوبه شدند. آنگاه 100 میکرولیتر محلول زی‌موزان و نیترو بلوتترازولیم (Nitro Blue Tetrazolium, NBT) به هریک از خانه‌ها اضافه و به مدت یک‌ساعت دیگر انکوبه شد. در نهایت، 400 میکرولیتر N-N دی‌متیل فورماید به هریک از خانه‌ها اضافه گردید و با سرعت 3000 دور در دقیقه به مدت 10 دقیقه در دمای 4 درجه سانتیگراد در سانتریفوژ یخچال‌دار سانتریفوژ شد. 200 میکرولیتر از مایع رویی هر خانه را در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته و نتیجه با الیزانگار در طول موج 540 نانومتر خوانده شد (۱۴). سوسپانسیون مخمر (کاندیدا آلبیکنس) با غلظت 2×10^6 در هر میلی‌لیتر PBS با سرم تازه رت نژاد ویستار اپسونیزه شد، سپس با 5×10^6 سلول نوتروفیل در یک میلی‌لیتر محیط کشت RPMI، به

شیوه مرسوم انکوبه گردید. پس از فیکس کردن سلول‌ها با فرمالین 10% و رنگ‌آمیزی آنها با همتاکسیلین - ائوزین، سلول‌های نوتروفیل رنگ‌آمیزی شده در زیر میکروسکوپ نوری با عدسی $40\times$ بررسی شدند. تعداد ۵ شان به ازای هر لام مورد مطالعه قرار گرفت (۱۳). هر شان حدوداً حاوی $70-100$ سلول نوتروفیل بود. بدین ترتیب تعداد کل نوتروفیل‌هایی که فاگوسیتوز انجام داده بودند مشخص گردید. سلول‌های نوتروفیل مجاورشده با سلول‌های بنیادی مزانشیمال مغز استخوان تیمار شده با $1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ با رنگ‌های آکریدن اورنج و پروپیدیوم یدید (Acridine Orange/Propidium Iodide) (Sigma Aldrich)، به شیوه مرسوم رنگ‌آمیزی شدند (۱۵). میزان زنده‌مانی نوتروفیل‌ها به کمک میکروسکوپ فلورسانس و عدسی $40\times$ در ۵ شان میکروسکوپی بررسی گردید. جهت مقایسه داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست Dunnett استفاده شد. تمامی بررسی‌های آماری در محیط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد و برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel (سال ۲۰۱۰) استفاده گردید. داده‌ها به‌صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ گزارش شدند. سطح معنی‌داری، $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

پس از سه بار پاساژ سلول‌های آسپیره شده از مغز استخوان، این سلول‌ها به‌صورت کشیده و به شکل تیپیک سلول‌های بنیادی مزانشیمال درآمدند (شکل شماره ۱).



ب



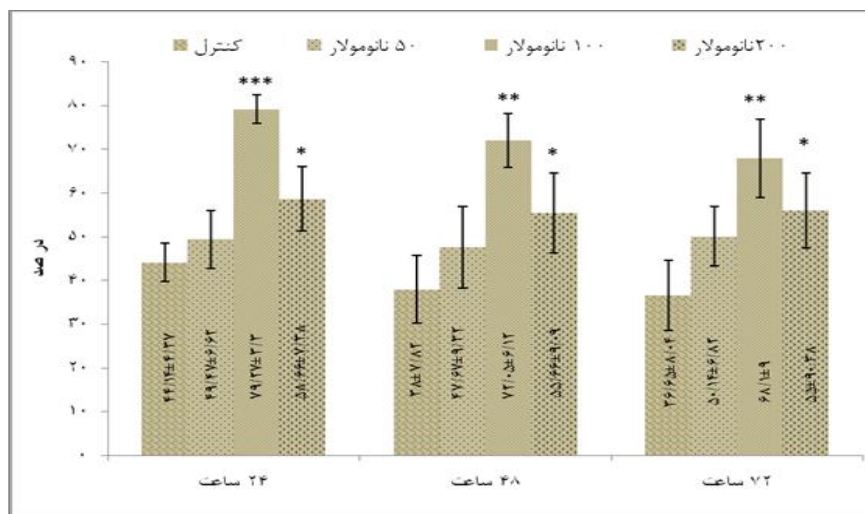
الف

شکل شماره ۱: پاساژ سلول‌های آسپیره شده از مغز استخوان. تغییر شکل این سلول‌ها پس از پاساژ سوم کاملاً مشهود است:

(الف) سلول‌های تازه آسپیره شده؛ (ب) سلول‌ها پس از پاساژ سوم.

بر همین اساس به نظر می‌رسد سلول‌های بنیادی مزانشیمال تیمار شده با ویتامین D3 در غلظت حداقل ۱۰۰ نانومولار در همه زمانها موجب افزایش قابلیت فاگوسیتوز سلول‌های نوتروفیل مجاور شده با آنها شده است (نمودار شماره ۱).

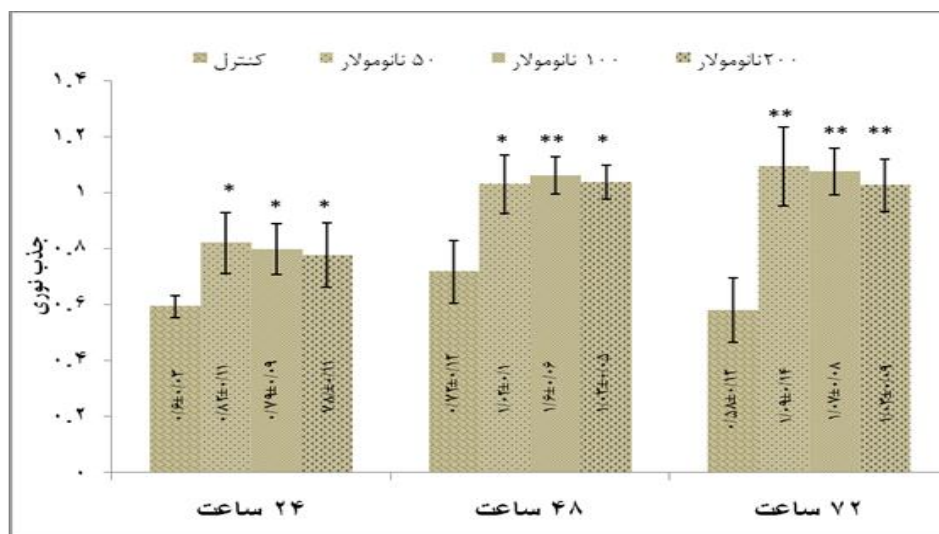
فرآیند فاگوسیتوز شامل دو مرحله: ۱- به درون کشیدن عامل مهاجم؛ ۲- کشتن عامل به درون کشیده با استفاده از روش‌های وابسته به اکسیژن و غیروابسته به اکسیژن می‌باشد. تست ارزیابی فاگوسیتوز که در این مطالعه استفاده شد، ارزیابی کلی از قابلیت برداشت به وسیله سلول‌های نوتروفیل را ارائه می‌دهد.



نمودار شماره ۱: ارزیابی قابلیت فاگوسیتوز سلول‌های نوتروفیل مجاور شده با سلول‌های مزانشیمال تیمار شده با غلظت‌های متفاوت ویتامین D3 در زمانهای مختلف. [*** نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.001$ ، ** نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.01$ و * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ نسبت به گروه کنترل (تیمار نشده با ویتامین D3) می‌باشد].

افزایش معنی‌دار قابلیت انفجار تنفسی نوتروفیل‌ها شده است (نمودار شماره ۲).

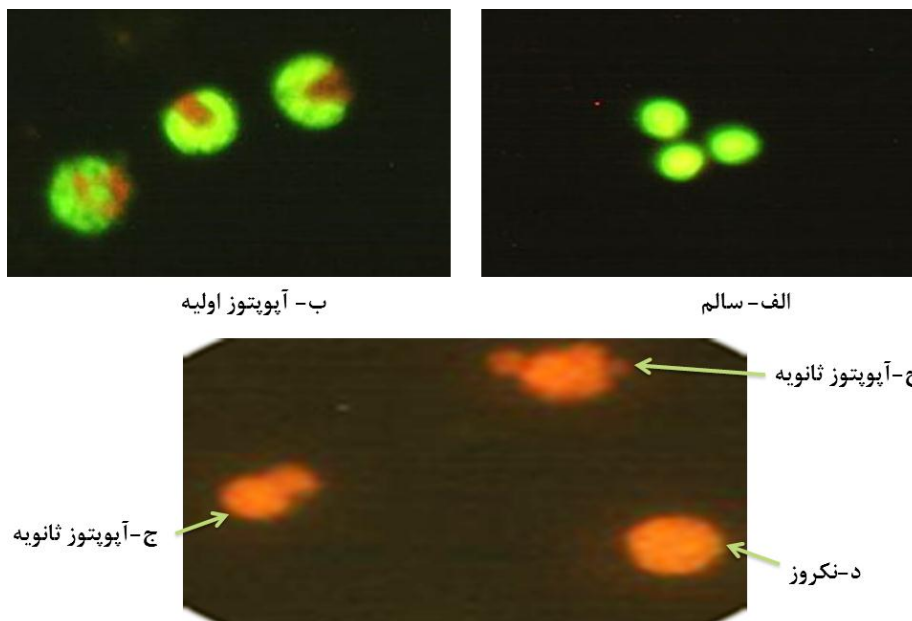
آزمون احیای NBT، ارزیابی کلی از قابلیت انفجار تنفسی نوتروفیل‌ها را ارائه می‌دهد. همچنین سلول‌های بنیادی مزانشیمال تیمار شده در غلظت حداقل ۵۰ نانومولار در همه زمانها موجب



نمودار شماره ۲: ارزیابی قابلیت انفجار تنفسی سلول‌های نوتروفیل مجاور شده با سلول‌های مزانشیمال تیمار شده با غلظت‌های متفاوت ویتامین D3 در زمانهای مختلف. [*** نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.001$ و * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ نسبت به گروه کنترل (تیمار نشده با ویتامین D3) می‌باشد].

سلول‌های به رنگ سبز، سالم؛ سلول‌های به رنگ سبز روشن همراه با کروماتین متراکم و قطعه قطعه، آپوپتوز اولیه؛ سلول‌های دارای رنگ قرمز با کروماتین متراکم و قطعه قطعه، آپوپتوز ثانویه و آنهایی که دارای هسته نرمال، متورم و قرمز رنگ هستند نکروز (۱۶) می‌باشند (شکل شماره ۲).

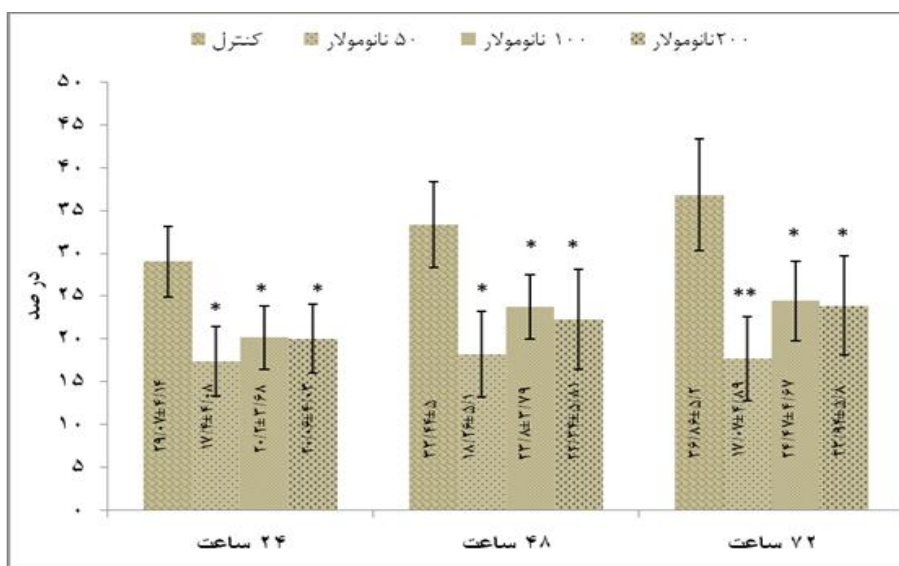
لازم به ذکر است که در روش رنگ آمیزی دوگانه آکریدین اورنج و پروپیدیوم یدید؛ آکریدین اورنج به داخل تمامی سلول‌ها نفوذ کرده و موجب سبز رنگ شدن هسته آنها می‌گردد. پروپیدیوم یدید فقط وارد سلول‌هایی می‌شود که غشای آنها سالم نباشد، همچنین باعث ایجاد رنگ قرمز در هسته آنها می‌شود.



شکل شماره ۲: ارزیابی میزان مرگ و بقای سلول‌های نوتروفیل تیمار شده با سلول‌های بنیادی مزانشیمال

بنیادی مزانشیمال در حفظ بقای سلول‌های نوتروفیل شود (نمودار شماره ۳).

بررسی‌های انجام شده حاکی از آن است که ویتامین D3 در غلظت حداقل ۵۰ نانومولار منجر به افزایش قابلیت سلول‌های



نمودار شماره ۳: ارزیابی میزان آپوپتوز سلول‌های نوتروفیل مجاور شده با سلول‌های مزانشیمال تیمار شده با غلظت‌های متفاوت ویتامین D3 در زمان‌های مختلف. [** نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.01$ و * نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ نسبت به گروه کنترل (تیمار نشده با ویتامین D3) می‌باشد.]

بحث

سلول‌های بنیادی مزانشیمال در محیط داخلی مغز استخوان در ارتباط نزدیک با سلول‌های نوتروفیل قرار می‌گیرند (۱۷، ۱۸). به نظر می‌رسد این سلول‌ها در حفاظت سلول‌های نوتروفیل از مرگ زودرس و مهار فعال‌سازی آنها در محیط داخلی مغز استخوان نقش دارند (۱۷). البته در بافت‌های طبیعی، سلول‌های بنیادی مزانشیمال اختصاصی به آن بافت نیز حضور دارند (۱۸). این سلول‌ها عمدتاً در نواحی مختلفی از قبیل نواحی اطراف سلول‌های اندوتلیال (Periendothelial) و نواحی اطراف عروقی (Perivascular) قرار گرفته‌اند (۱۸). مطالعات نشان داده است سلول‌های بنیادی مزانشیمال مقیم در بافت، در فراخوانی سلول‌های نوتروفیل و افزایش قابلیت‌های التهابی آنها در پی چالش میکروبی، نقش اساسی دارند (۱۸). بنابراین، به نظر می‌رسد ریزمحیطی که سلول‌های بنیادی مزانشیمال در آن قرار گرفته‌اند، در نهایت بر وضعیت سلول‌های نوتروفیل مرتبط با آنها مؤثر خواهد بود. در تحقیق حاضر به بررسی اثر $1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ در شکل‌دهی عملکرد سلول‌های بنیادی مزانشیمال بر قابلیت‌های نوتروفیل‌ها پرداخته شد.

ویتامین D یکی از مشتقات خانواده هورمون‌های استروئیدی است. تمامی مشتقات این هورمون‌های استروئیدی در تنظیم بیان ژن‌ها نقش دارند (۱۹). شناخته‌شده‌ترین عملکرد ویتامین D؛ تنظیم تعادل کلسیم در بدن، شکل‌گیری استخوان و تنظیم جذب دوباره کلسیم می‌باشد. عملکرد شکل فعال ویتامین D [$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$] بعد از اتصال به گیرنده خود در هسته سلول آغاز می‌شود (۸، ۱۹). همچنین ویتامین D3 دارای اثرات متعددی بر سیستم ایمنی است. گیرنده‌های این هورمون در بسیاری از سلول‌های ایمنی بدن شامل: ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک، لمفوسیت‌ها و سلول‌های NK یافت می‌شوند (۲۰). وقوع بیماری‌های خودایمن از قبیل اسکروز متعدد (MS) و بیماری التهابی روده (IBD) در کشورهای پیشرفته طی ۵۰ سال اخیر افزایش چشمگیری یافته است (۲۱، ۲۲). برای توجیه افزایش وقوع چنین بیماری‌های خودایمن با محدودیت‌های جغرافیایی، به فاکتورهای محیطی متعددی می‌توان اشاره نمود. در این میان، نقش ویتامین $1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ به عنوان یک ترکیب تعدیل‌کننده سیستم ایمنی مورد توجه زیادی قرار

گرفته است (۲۳). مجموعه اثرات کاهش فعالیت در فضای باز، افزایش جمعیت و رژیم غذایی فاقد مقادیر کافی ویتامین D می‌تواند عامل ایجاد یک نوسان بزرگ در میزان ویتامین D موجود در میان جمعیت کشورهای پیشرفته، به‌ویژه در میان جمعیت‌هایی که فصل زمستان طولانی‌تری را می‌گذرانند، باشد (۲۴، ۲۵). از طرف دیگر، امروزه به توانمندی‌های سلول‌های بنیادی مزانشیمال در امر درمان بیماری‌های ناشی از اختلالات ایمونوپاتولوژیک توجه زیادی می‌شود (۴-۲). اطلاعات محدود قبلی حاکی از آن است که $1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ موجب افزایش بیان GTPase‌های خانواده Rho و القای Survivin در سلول‌های بنیادی مزانشیمال شده است (۹). با این وجود این سلول‌ها همچنان قابلیت تمایز پلی‌کلونال خود را به سمت بافت‌های مختلف حفظ می‌کنند (۱۰).

در مجموع، به نظر می‌رسد ویتامین $1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ موجب کاهش میزان آپوپتوز (۹، ۱۰) و فرآیندهای پیری (۱۰)، همچنین اثرات ضدتکثیری (۹) در سلول‌های بنیادی مزانشیمال می‌شود. حضور سلول‌های بنیادی مزانشیمال مغز استخوان از افراد سالم در کنار سلول‌های نوتروفیل به نسبت ۱ به ۵۰۰ به صورت معنی‌داری موجب کاهش آپوپتوز در سلول‌های نوتروفیل در حال استراحت، نوتروفیل‌های فعال‌شده با IL-8 و نوتروفیل‌های فعال‌شده با تری‌پتید N-formyl-L-methionin-L-leucyl-L-phenylalanine (f-MLP) می‌شود (۱۷). عملکرد مشابهی نیز در ارتباط با سلول‌های بنیادی مزانشیمال بافت‌های محیطی گزارش شده است (۱۸). تحقیقات بیشتر نشان می‌دهد IL-6 تولیدشده توسط MSC موجب افزایش بقا و مهار آپوپتوز در سلول‌های نوتروفیل می‌گردد (۱۷). همچنین IL-6 در کاهش سطح پروتئین پیش‌آپوپتوزی Bax و افزایش پروتئین ضدآپوپتوزی mcl-1 در سلول‌های نوتروفیل نقش دارد (۶، ۱۷). در مطالعه حاضر تیمار با $1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ موجب افزایش زنده‌مانی نوتروفیل‌ها شد، که احتمالاً این امر می‌تواند به دلیل تقویت تولید IL-6 توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمال در پی تیمار با $1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ باشد. هرچند که این مسئله نیاز به مطالعات بیشتری دارد. گزارشهای اخیر نشان داده است سلول‌های بنیادی مزانشیمال مغز استخوان

بر روی قابلیت فاگوسیتوز نوتروفیل‌ها، بیان مولکول‌های چسبنده و پاسخ کموتاکتیک به IL-8، f-MLP و C5a، تأثیر معنی‌داری ندارد (۱۷). این در حالی است که تحریک سلول‌های مزانشیمال بافتی با اندوتوکسین باکتریایی از طریق گیرنده‌های شبه‌تول (Toll-like Receptor, TLR) موجب افزایش آزادسازی مقدار زیادی از سایتوکاین‌های التهابی از قبیل IL-8، MIF و در پی آن موجب فراخوانی، افزایش قابلیت فاگوسیتوز و انفجار تنفسی نوتروفیل‌ها می‌شود (۱۸).

همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد تیمار MSCهای مغز استخوان با 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 موجب افزایش معنی‌دار قابلیت فاگوسیتوز و انفجار تنفسی سلول‌های نوتروفیل می‌شود. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت

نتیجه‌گیری

در مجموع، به نظر می‌رسد تیمار سلول‌های بنیادی مزانشیمال مغز استخوان با 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 می‌تواند موجب تقویت عملکرد سلول‌های مزانشیمال در افزایش بقا، قابلیت فاگوسیتوز و انفجار تنفسی سلول‌های نوتروفیل گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان این مقاله از زحمات جناب آقای اصغر علیاری کارشناس آزمایشگاه ایمنی‌شناسی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه کمال تقدیر و تشکر را دارند.

نتیجه‌گیری

References:

1. Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2008;8(9):726-36.
2. Meirelles Lda S, Fontes AM, Covas DT, Caplan AI. Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009;20(5-6):419-27.
3. Porada CD, Almeida-Porada G. Mesenchymal stem cells as therapeutics and vehicles for gene and drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2010;62(12):1156-66.
4. Ghannam S, Bouffi C, Djouad F, Jorgensen C, Noel D. Immunosuppression by mesenchymal stem cells: Mechanisms and clinical applications. *Stem Cell Res Ther* 2010;1(1):2.
5. Farmakis D, Giakoumis A, Polymeropoulos E, Aessopos A. Pathogenetic aspects of immune deficiency associated with beta-thalassemia. *Med Sci Monit* 2003;9(1):RA19-22.
6. Maqbool M, Vidyadaran S, George E, Ramasamy R. Human mesenchymal stem cells protect neutrophils from serum-deprived cell death. *Cell Biol Int* 2011;35(12):1247-51.
7. Yang CY, Leung PS, Adamopoulos IE, Gershwin ME. The implication of Vitamin D and autoimmunity: A comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol* 2013;45(2):217-26.
8. Zella JB, DeLuca HF. Vitamin D and autoimmune diabetes. *J Cell Biochem* 2003;88(2):216-22.
9. Artaza JN, Sirad F, Ferrini MG, Norris KC. 1,25(OH)₂ Vitamin D3 inhibits cell proliferation by promoting cell cycle arrest without inducing apoptosis and modifies cell morphology of mesenchymal multipotent cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;119(1-2):73-83.
10. Klotz B, Mentrup B, Regensburger M, Zeck S, Schneidereit J, Schupp N, Linden C, Merz C, Ebert R, Jakob F. 1,25-dihydroxy Vitamin D3 treatment delays cellular aging in human mesenchymal stem cells while maintaining their multipotent capacity. *Plos One* 2012;7(1):e29959.
11. Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, Benvenuto F, Bonanni I, Gerdoni E, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood* 2005;106(5):1755-61.

12. Rezapour A, Majidi J. An improved method of neutrophil isolation in preperal blood of sheep. *J Animal Vet Adv* 2009;8(1):11-15.
13. Nagelkerke LAJ, Pannevis MC, Hoalihan DF, Secombes CJ. Oxygen uptake of rainbow trout on corhynchus mykiss phagocytes following stimulation of the respirator burst. *Dexp Bio* 1990;1(154):339-53.
14. Haq A, Lobo PI, Al-Tufail M, Rama NR, Al-Sedairy ST. Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion exchange chromatography. *Int J Immunopharmacol* 1999;21(4):283-95.
15. Turina M, Miller FN, McHugh PP, Cheadle WG, Polk HC Jr. Endotoxin inhibits apoptosis but induces primary necrosis in neutrophils. *Inflammation* 2005;29(1):55-63.
16. Salti GI, Grewal S, Mehta RR, Das Gupta TK, Boddie AW Jr, Constantinou AI. Genistein induces apoptosis and topoisomerase II-mediated DNA breakage in colon cancer cells. *Eur J Cancer* 2000;36(6):796-802.
17. Raffaghello L, Bianchi G, Bertolotto M, Montecucco F, Busca A, Dallegri F, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit neutrophil apoptosis: A model for neutrophil preservation in the bone marrow niche. *Stem Cells* 2008;26(1):151-162.
18. Brandau S, Jakob M, Hemeda H, Bruderek K, Janeschik S, Bootz F, et al. Tissue-resident mesenchymal stem cells attract peripheral blood neutrophils and enhance their inflammatory activity in response to microbial challenge. *J Leukocyte Biol* 2010;88(5):1005-15.
19. Smyk DS, Orfanidou T, Invernizzi P, Bogdanos DP, Lenzi M. Vitamin D in autoimmune liver disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013;37(5):535-45.
20. van Etten E, Mathieu C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxy Vitamin D3: Basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005;97(1-2):93-101.
21. Cantorna MT. Mechanisms underlying the effect of Vitamin D on the immune system. *Proc Nutr Soc* 2010;69(3):286-89.
22. Carlson NG, Rose JW. Vitamin D as a clinical biomarker in multiple sclerosis. *Expert opin Med Diagn* 2013;7(3):231-42.
23. Cantorna MT. Vitamin D and its role in immunology: Multiple sclerosis, and inflammatory bowel disease. *Prog Biophys Mol Biol* 2006;92(1):60-64.
24. Namgung R, Mimouni F, Campaigne BN, Ho ML, Tsang RC. Low bone mineral content in summer-born compared with winter-born infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1992;15(3):285-88.
25. Namgung R, Tsang RC, Specker BL, Sierra RI, Ho ML. Low bone mineral content and high serum osteocalcin and 1,25-dihydroxy Vitamin D in summer- versus winter-born newborn infants: An early fetal effect? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994;19(2):220-27.