مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال اول، شماره دوم، پاییز ۱۳۹۱ (۴۲-۳۳)

میزان تحمل مقادیر کم کلرید روی در سلول‌های رده لنفوئیدی B و T در محیط کشت

سیما نصری[۱]، سایه بیداران[۲]*، پرویز نصیری[۳]

۱. عضو هیئت علمی، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام‌نور
۲. کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام‌نور
۳. عضو هیئت علمی گروه آمار و ریاضی، دانشگاه پیام‌نور
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۳/۱۱، تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۹/۱۱)

چکیده

روی (Zn) یک عنصر ضروری برای سیستم ایمنی محسوب می‌گردد. این عنصر اثرات مختلفی بر فعالیت سیستم ایمنی دارد. از سوی دیگر سطوح مختلف روی در سرم خونی عملکرد طبیعی لنفوسیت‌ها را تغییر می‌دهد. در مطالعه حاضر میزان تحمل مقادیر مختلف کلرید روی در سلول‌های رده لنفوئیدی B و T بررسی شده است. این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۹و ۹۰ در دانشگاه پیام نور انجام شد. سلول‌های رده لنفوئیدی B و T (راجی و مولت-۴) در مجاورت غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰،۱۲۵، ۱۵۰، ۱۷۵ و ۲۰۰ میکرومولار کلرید روی در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۶۰ و ۷۲ ساعت انکوبه شدند. سپس درصد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی B و T (راجی و مولت-۴) بوسیله روش هموسایتومترمحاسبه گردید و درصد سلول‌های زنده به عنوان شاخص تحمل سلولی به اثر کلرید روی در نظر گرفته شد. داده‌های جمع آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری از جمله آزمون T-test و آزمون Kruskal-Wallis test تجزیه و تحلیل شدند. نتایج نشان داد غلظت‌های ۴۰-۱ میکرومولار کلرید روی بر تعداد درصد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی B، T و میزان تحمل این سلول‌ها در زمان‌های مختلف پس از انکوباسیون (۱۲ تا ۷۲ ساعت) نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($p >۰/۰۵$). اما در غلظت‌های ۲۰۰-۵۰ میکرومولار کلرید روی، میزان تحمل سلول‌ها نسبت به گروه شاهد و غلظت زیر ۵۰ میکرومولار کلرید روی کاهش معنی‌داری یافت ($p<۰/۰۵$). روی برای عملکرد طبیعی سیستم ایمنی لازم است اثرات مختلف روی بر سلول‌های رده لنفوئیدی B و T بستگی به میزان غلظت روی دارد مقادیر بالای روی می‌تواند اثرات منفی و بازدارنده بر روی سلول‌های رده لنفوئیدی B و T بگذارد.

واژه‌های کلیدی: تحمل سلولی، سلول زنده رده لنفوئیدی B، سلول زنده رده لنفوئیدی T ، سیستم ایمنی، کلرید روی.

B Cell Line (Raji) and T Cell Line (molt-4) Tolerance to Low Concentration Zinc Chloride in Vitro Study

S. Nasri[1], S. Bidaran[2]*, P. Nasiri[3]

1, Assistant Professor, Department of Bioloty, Payam-e-Noor Uiversity, Tehran, 2, Animal Physiology, Department of Biology, Payam-e-Noor Uiversity, Tehran, 3, Associate Professor, Academic Department of Statistics and Mathematics, Payam-e-Noor Uiversity, Tehran
(Received: Jun. 1, 2013; Accepted: Dec. 2, 2013)

Abstract

Introduction & Objective: Zinc is an essential element for the immune system. This element has different effects on immune system activity. On the other hand, different serum Zn levels also alter normal B-cell line and T-cell line functions. The present study was carried out to assess B cell line and T cell line tolerance to low concentration Zinc Chloride In vitro study. This experimental study was conducted at the Payame Noor University of Tehran in 2010. The B- cell line and T-cell line were exposed to 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100,125, 150,175 and 200 µm (λ) of Zinc Chloride followed by incubation at 12, 24, 36, 48, 60 and 72 hrs. Viability of B- cell line (Raji) and T-cell line (molt-4) were evaluated with hemocytometer method and percentage of living cells have been considered as cellular tolerance index to cytotoxic effects of Zinc chloride. The results were analyzed by SPSS software, version 18 using T-test and Kruskal-Wallis test. In this study, the results showed Zinc chloride concentrations up to 40 µm (λ) at different incubation time points (12-72 hrs) had no effects on B cell line and T cell line viability ($p> 0.05$) With 50-200 µm (λ) concentrations, Zinc at different incubation time points (12-72 hrs) tolerance B cell and T cell line decreased and viability decreased significantly when compared with the control group and test groups up to 40 µm (λ) concentration ($p< 0.05$). All groups at different after incubation time , Zinc concentrations (50-200 µm) B cell and T cell line tolerance decreased significantly when compared with Zinc chloride concentrations up to 40 µm (λ) ($p< 0.05$). Zinc is necessary for the normal function of the immune system. A variety of in vitro effects of zinc on B cell line and T cell line depend on the zinc concentration. High dosages of zinc evoke negative effects on B cell line and T cell line. An excess of zinc can inhibit B- cell line and T-cell line function.

Keywords: Tolerance, B-cell line, T-cell line, Immune system, Zinc Chloride.

* نویسنده مسئول: سایه بیداران E-mail: sayeh_bidaran@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

بیش از دو قرن پیش مشخص شد که عنصر روی (Zn) برای رشد آسپرژیلوس نیگرا لازم است (Raulin, 1869). ضرورت وجود عنصر روی برای رشد و تکوین جنین راتها به اثبات رسیده است و سپس سندرم فقدان روی به همراه آثاری چون آنمی، عدم رشد اندام تناسلی و غدد تناسلی در کودکان مشاهده شد (Vallee, 1993). عنصر روی به عنوان کوفاکتور برای بیشتر از ۳۰۰ نوع آنزیم، به خصوص متالوآنزیم‌ها و عوامل موثر در نسخه‌برداری (RNA پلیمراز و DNA پلیمراز) شناخته شده است (Overbeck, 2008). کاهش عنصر روی منجر به تضعیف عملکرد سیستم ایمنی می‌گردد، ضرورت هموستازی روی در بدن که بوسیله پروتئین انتقالی و ناقل روی صورت می‌گیرد برای عملکرد صحیح سیستم ایمنی به اثبات رسیده است (Rink, 2007). کاهش مقادیر روی در بدن به همراه آتروفی تیموس، کاهش ایمنی و افزایش عفونت‌های ویروسی، قارچی و باکتریایی به اثبات رسیده است (Mills, 1989). مقدار کلی عنصر روی در بدن انسان حدود ۴-۲ گرم است و غلظت عنصر روی در پلاسما حدود ۱۶-۱۲μm است. مقدار زیادی از این عنصر در سرم خون توسط آلبومین و به مقدار کمتر توسط ترانسفرین حمل می‌شود. در ضمن هیچ سیستم ذخیره ای مخصوص عنصر روی در بدن انسان تاکنون گزارش نشده است (Chavakis, 1999). روی عامل آنتی‌اکسیدانی است و نقش مهم و محافظت‌کننده‌ای در برابر رادیکال‌های آزاد دارد (Roussel, 2003; Saki, 2009). در روند بلوغ و تکامل دستگاه‌های تولیدمثلی، در روند درمان سرطان پروستات، بزرگی خوش‌خیم و تورم پروستات نقش مکمل روی ثابت شده است. همچنین در دوران بارداری و شیردهی در زنان مصرف روی افزایش می‌یابد (Vallee, 1993). کاهش عنصر روی می‌تواند بر روی فعالیت کموتاکسی نوتروفیل‌ها، در فعال‌سازی سلول‌های کشنده و فاگوسیتوز ماکروفاژها اثر بازدارنده داشته باشد (Keen, 1990). روی می‌تواند با اثر بر بیان رسپتورهای اینترلوکین ۲ بر تکثیر سلول‌های لنفوسیتی اثر بگذارد (Saha, 1995). از طرف دیگر تأثیر عنصر روی بر تکوین و تمایز و تکثیر لنفوسیت‌های T ثابت شده است و کاهش آن نیز اثر مهاری بر میزان ترشح تیمولین (هورمون تیموسی) دارد که تمایز لنفوسیت‌های T را به تعویق می‌اندازد (Crea, 1990) در واقع عنصر روی در مقادیر متفاوت هم در محیط بدن انسان (In vivo) و هم در محیط آزمایشگاهی (In vitro) می‌تواند اثرات متناقضی بر فعالیت لنفوسیت‌های B و T داشته باشد. بعضی از بیماری‌های خودایمن با منشأ آسیب‌شناسی سلول‌های T متعاقب کاهش روی صورت می‌گیرد (Campo, 2000). در مطالعه‌ای که توسط Michiko *et al*., 2000) در خصوص اثر کلرید روی بر سلول‌های زنده مولت-۴ انجام گردید مشخص گردید در غلظت‌های بالاتر ار ۱۰۰ میکرومولار کاهش معنی‌داری در تعداد سلول‌های زنده مولت-۴ دیده می‌شود (Michiko, 2000). مطالعه‌های Siegel *et al.* (2006) در محیط آزمایشگاهی نشان می‌دهد عدم تعادل روی در بدن سبب مرگ برنامه‌ریزی شده و آپوپتوزیس می‌گردد (Siegel, 2006). در مطالعاتی که بر اثر غلظت‌های مختلف روی در محیط آزمایشگاهی انجام شده است بیشتر اثرات سمیت سلولی عنصر روی در مقادیر بالا بر روی رده سلولی لنفوئیدی مورد بررسی قرار گرفته است و کمتر به اثر مقادیر پائین عنصر روی بر سلول‌های ایمنی به خصوص لنفوسیت‌ها پرداخته شده است و همچنین مطالعات قبلی اکثراً بر روی رده سلول‌های T بوده و یک گزارش در ایران بر روی اثر روی بر مخلوطی از سلول‌های رده لنفوئیدی بدون در نظر گرفتن پاسخ هر یک به طور مجزا انجام شده است (تکمه‌داشی، ۱۳۸۴) و تاکنون گزارشی مبنی بر بررسی اثر عنصر روی برسلول رده لنفوئیدی T و B (راجی و مولت-۴) به طورمجزا و جداگانه در دست نیست. از آنجا که تحمل و پاسخ سلولی رده لنفوئیدی B و Tنسبت به عنصر روی می‌تواند متفاوت باشد در این مطالعه میزان تحمل مقادیر کم کلرید روی در دو نوع سلول‌های رده لنفوئیدی B و T (راجی و مولت-۴) به طور جداگانه و در محیط کشت مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق یک مطالعه تجربی است که در سال ۱۳۸۹ و ۹۰ در دانشگاه پیام‌نور انجام شد. برای تهیه محلول یکنواخت، کلرید روی (تهیه شده از شرکت مرک آلمان) را با فیلتراسیون غشایی فیلتر کرده، از کلرید روی یک مولار غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰، ۱۷۵ و ۲۰۰ میکرومولار تهیه می‌گردد. در زیر هود بیولوژیک از سلول‌های رده لنفوئیدی B و T سوسپانسیون سلولی به روش زیر تهیه شد: به ۴۰ میکرولیتر از هر گروه سلول رده لنفوئیدی B وT (سلول‌های راجی و مولت-۴ تهیه شده از انستیتو پاستور) ۴۰ میکرولیتر معرف تریپان بلو (۰/۲٪ W/V تریپان بلو در بافر PBS) اضافه نموده (Butler, 2004)، و به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق قرار داده و سپس بوسیله پیپت پاستور مقداری

Archive of SID

www.SID.ir

نمونه بر روی لام نئوبار منتقل کرده و سپس سلول‌های پنج مربع مشبک شمارش می‌گردد. درصد سلول‌هایی که با تریپان بلو رنگ‌آمیزی نشده‌اند بیانگر تعداد سلول‌های زنده است. غلظت سلولی Cells/ms برابر است با: (تعداد سلول شمارش شده X^{4}۱۰ تقسیم بر ۵) و میزان درصد سلولهای زنده از طریق فرمول (تعداد سلول‌های زنده X ۱۰۰ تقسیم بر تعداد کل سلول‌ها) محاسبه می‌گردد (Butler, 2004; Patterson, 1979) سپس ۷۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون را برداشته و در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای وارد کرده و به همه چاهک‌ها ۱۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف روی (غلظت صفر به عنوان شاهد تا غلظت ۲۰۰ میکرومولار) اضافه گردید سپس به همه چاهک‌ها ۲۰ میکرولیتر محیط کشت RPMI-1640 به همراه ۱۰٪ سرم گاوی (تهیه شده از شرکت سیگما آمریکا) که محیط کشت اختصاصی برای سلول‌های رده لنفوئیدی B و T می‌باشد اضافه گردید (Butler, 2004). محتویات چاهک‌ها جهت بررسی سلول‌های زنده زیر میکروسکوپ معکوس (اینورت) مشاهده شدند. سپس پلیت‌ها را در انکوباتور CO_2دار در دمای 37^{oC} قرار داده و پس از پایان یافتن انکوباسیون در فواصل زمانی ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸،۶۰ و ۷۲ ساعت، ۵ چاهک پلیت برای هر گروه از غلظت‌های کلرید روی جهت شمارش و بررسی تعداد سلولهای زنده مورد بررسی قرار گرفتند. این آزمایش برای هر سلول رده لنفوئیدی B و T در غلظت‌های مختلف کلرید روی ۳ دفعه تکرار شد. برای تعیین سلول‌های زنده در هر بار شمارش به اندازه حجم سوسپانسیون سلولی همان حجم تریپان بلو (W/V ۰/۲٪ تریپان بلو در بافر فسفات سالین PBS) استفاده شد. سپس بعد از ۲ دقیقه نمونه‌ها را بوسیله تکنیک هموسایتومتر (لام نئوبار) شمارش کرده و سلول‌های رنگ‌آمیزی نشده بیانگر تعداد سلول‌های زنده بود، با استفاده از فرمول (تعداد سلول‌های زنده X ۱۰۰ تقسیم بر تعداد کل سلول‌ها)، درصد سلول‌های زنده محاسبه شد شمارش هر سلول در هر غلظت کلرید روی به منظور کاهش خطا ۳ مرتبه انجام شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری از جمله آزمون T-test و آزمون Kruskal-Wallis test تجزیه و تحلیل شدند و تعداد درصد سلول‌های زنده در هر گروه زمانی و هر غلظتی با گروه شاهد همان ساعت مورد مقایسه قرار گرفت. همچنین درصد تعداد سلول‌های زنده در دو گروه با اثر غلظت کلرید روی کمتر از ۵۰ میکرومولار با غلظت کلرید روی ۵۰ و بیشتر از ۵۰ میکرومولار در هر ساعت پس از انکوباسیون مورد مقایسه قرار گرفت. همچنین داده‌های بدست آمده در سه مرتبه تکرار نسبت به هم مقایسه شدند و میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده راجی نسبت به میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده مولت -۴ مقایسه شدند و $P<0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته می‌شود.

نتایج

داده‌های بدست آمده در سه بار تکرار آزمایش نسبت به هم مقایسه و هیچکدام تفاوت معنی‌داری نداشتند. همچنین نتایج نشان می‌دهد غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکرومولار کلرید روی بر سلول‌های رده لنفوئیدی B و T (راجی و مولت -۴) پس از ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۶۰ و ۷۲ ساعت انکوباسیون مشخص می‌شود درصد تعداد سلول‌های زنده تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت ($P>0/05$). در غلظت‌های ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰، ۱۷۵ و۲۰۰ میکرومولار پس از ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۶۰ و ۷۲ ساعت انکوباسیون درصد تعداد سلول‌های زنده راجی و مولت -۴ نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$). همچنین میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی B (راجی) نسبت به سلول‌های رده لنفوئیدی T (مولت-۴) اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P>0/05$) (شکل‌های ۱ الی ۱۲).

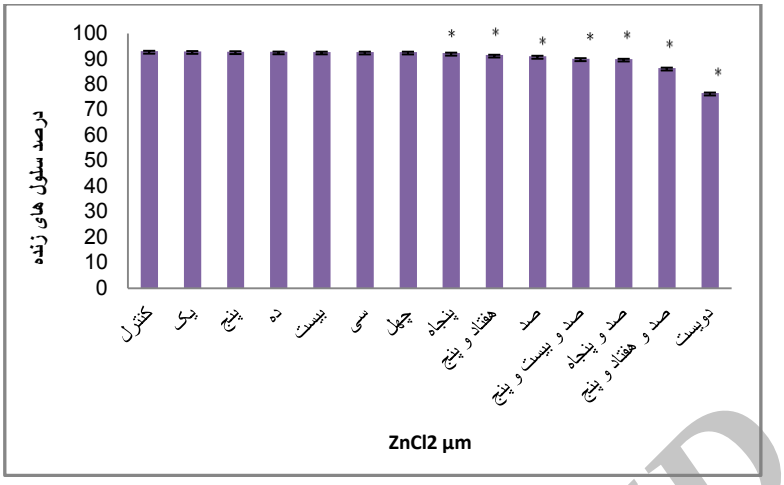
در بررسی میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده در دو گروه با اثر غلظت کلرید روی کمتر از ۵۰ میکرومولار با غلظت کلرید روی ۵۰ و بیشتر از ۵۰ میکرومولار در هر ساعت پس از انکوباسیون و هر دو نوع سلول مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود بطوری که تعداد سلول‌های زنده در گروه با غلظت ۵۰ میکرومولار و بیشتر از ۵۰ میکرومولار نسبت به گروه با غلظت پائین‌تر از ۵۰ میکرومولار کاهش معنی‌داری دارد ($P < 0/05$) (شکل ۱۳ و ۱۴).

بحث

یافته‌های این مطالعه با نتایج Wellinghausen *et al.* (2000) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. به طوری که در هر دو مطالعه در حضور غلظت‌های بالای کلرید روی عملکرد سلول‌های مولت-۴ تضعیف می‌شود (Wellinghausen, 2000). همچنین مطالعات Michiko *et al.* (2000) بر روی سلول‌های مولت-۴ موید این نکته است که با افزایش میزان غلظت کلرید روی میزان تحمل سلول‌های رده

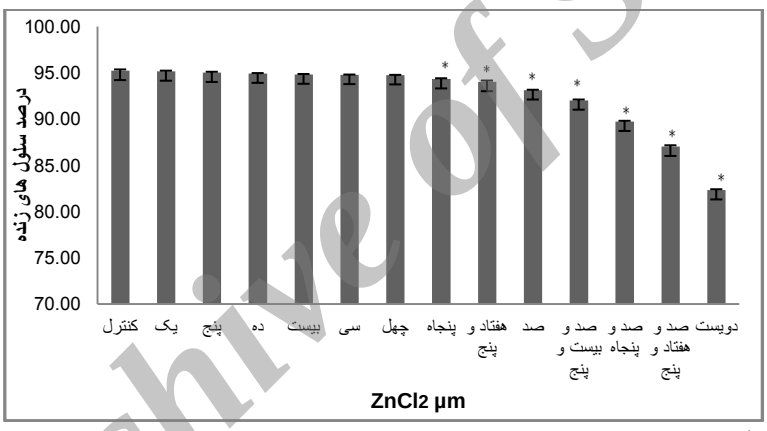
Archive of SID

www.SID.ir



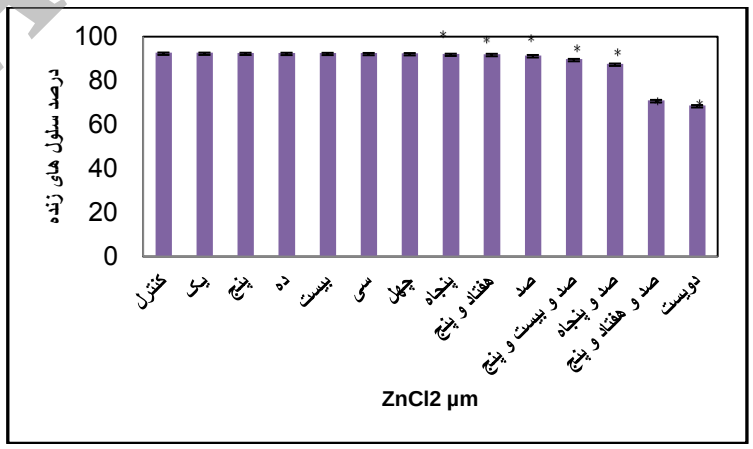
شکل ۱. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر روی میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی B (راجی) پس از ۱۲ ساعت انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ ($p<0/05$) تفاوت معنی‌دار را با گروه کنترل نشان می‌دهد.



شکل ۲. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر روی میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی B (راجی) پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ ($p<0/05$) تفاوت معنی‌دار را با گروه کنترل نشان می‌دهد.

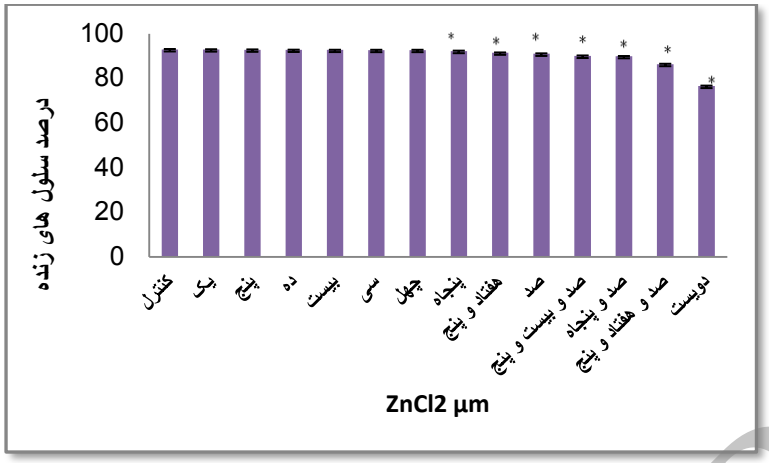


شکل ۳. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر روی میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی B (راجی) پس از ۳۶ ساعت انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ ($p<0/05$) تفاوت معنی‌دار را با گروه کنترل نشان می‌دهد.

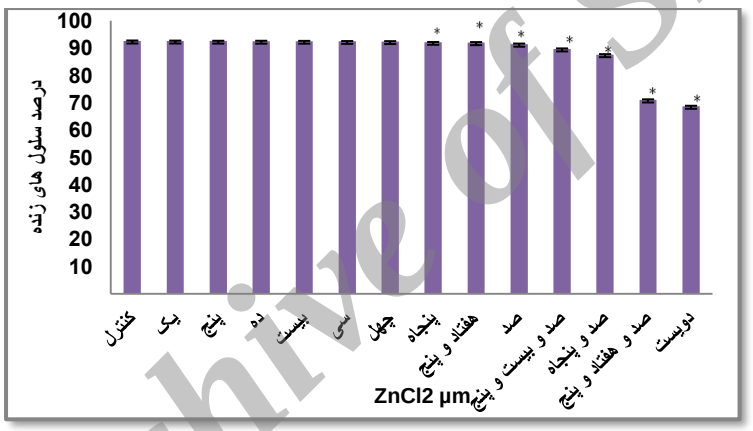
Archive of SID

www.SID.ir



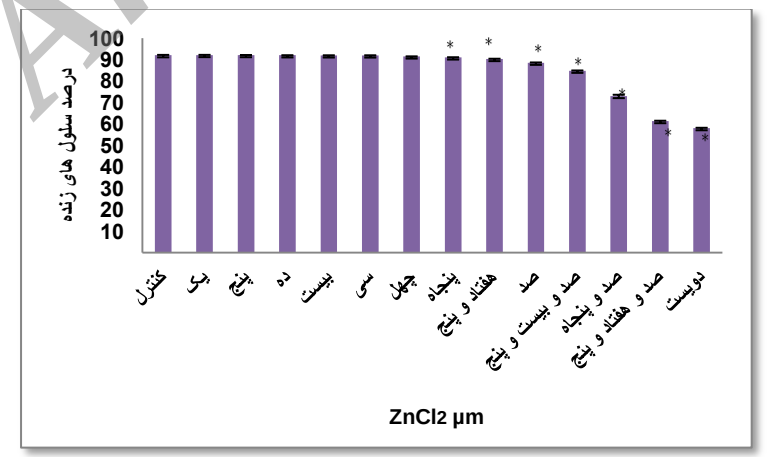
شکل ۴. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر روی میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی B (راجی) پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ ($p<0/05$) تفاوت معنی‌دار را با گروه کنترل نشان می‌دهد.



شکل ۵. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر روی میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی B (راجی) پس از ۶۰ ساعت انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ ($p<0/05$) تفاوت معنی‌دار را با گروه کنترل نشان می‌دهد.

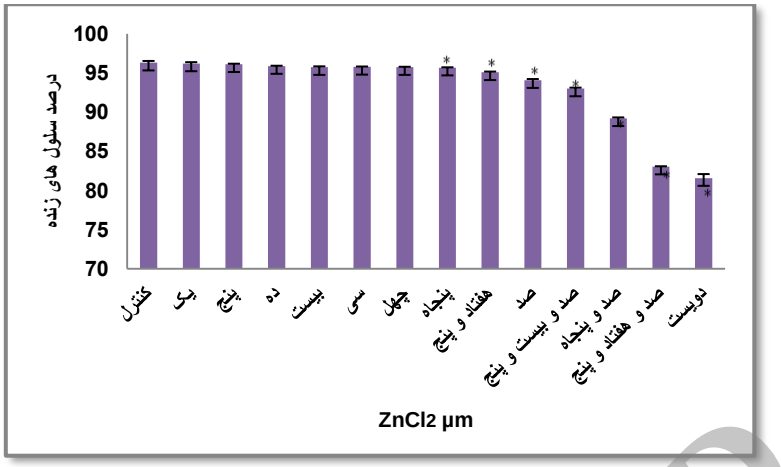


شکل ۶. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر روی میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی B (راجی) پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ ($p<0/05$) تفاوت معنی‌دار را با گروه کنترل نشان می‌دهد.

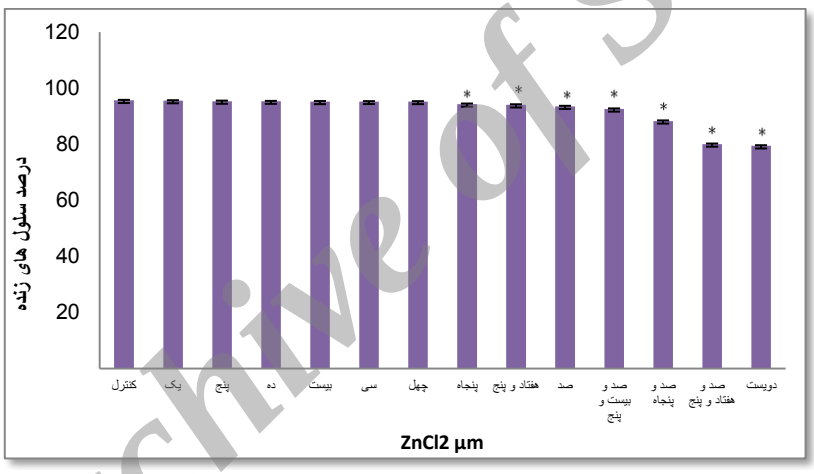
Archive of SID

www.SID.ir



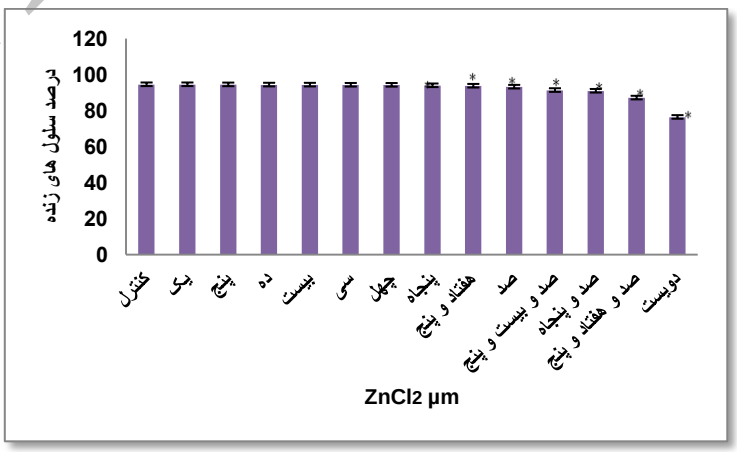
شکل ۷. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر روی میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی T (مولت-۴) پس از ۱۲ ساعت انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ ($p<0/05$) تفاوت معنی‌دار را با گروه کنترل نشان می‌دهد.



شکل ۸. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر روی میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی T (مولت-۴) پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ ($p<0/05$) تفاوت معنی‌دار را با گروه کنترل نشان می‌دهد.

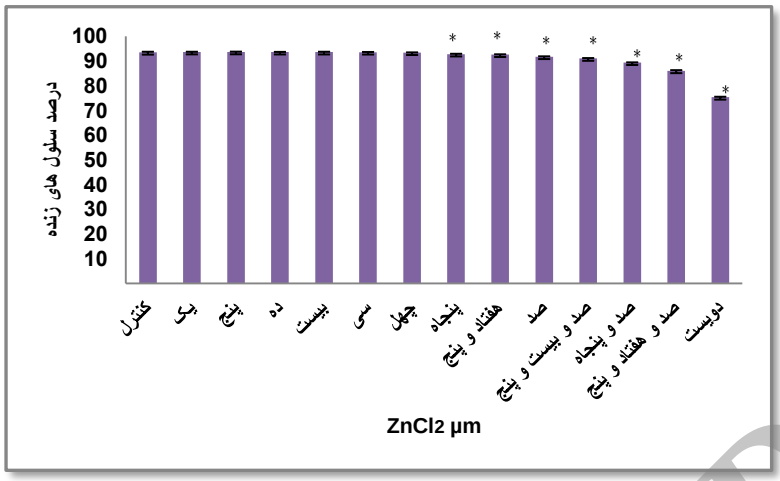


شکل ۹. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر روی میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی T (مولت-۴) پس از ۳۶ ساعت انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ ($p<0/05$) تفاوت معنی‌دار را با گروه کنترل نشان می‌دهد.

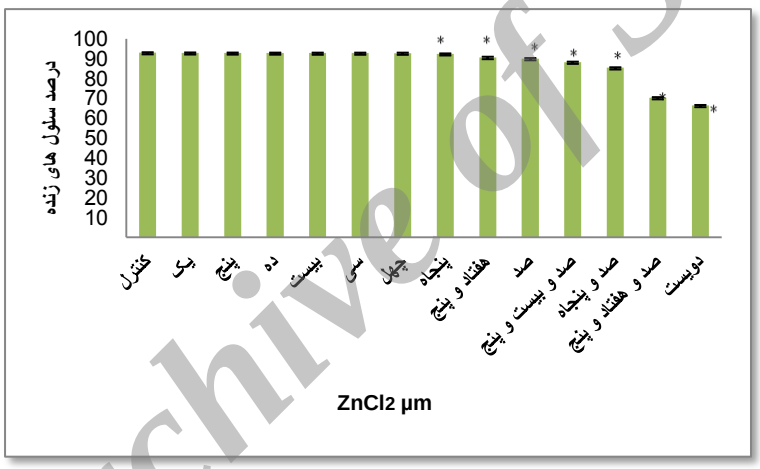
Archive of SID

www.SID.ir



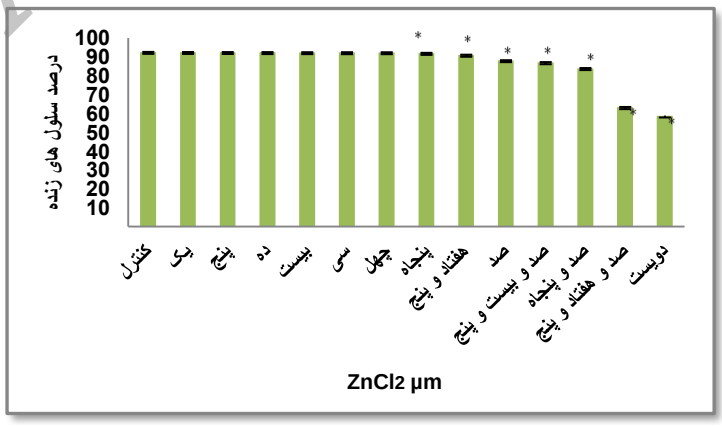
شکل ۱۰. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر روی میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی T (مولت-۴) پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ ($p<0/05$) تفاوت معنی‌دار را با گروه کنترل نشان می‌دهد.



شکل ۱۱. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر روی میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی T (مولت-۴) پس از ۶۰ ساعت انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ ($p<0/05$) تفاوت معنی‌دار را با گروه کنترل نشان می‌دهد.

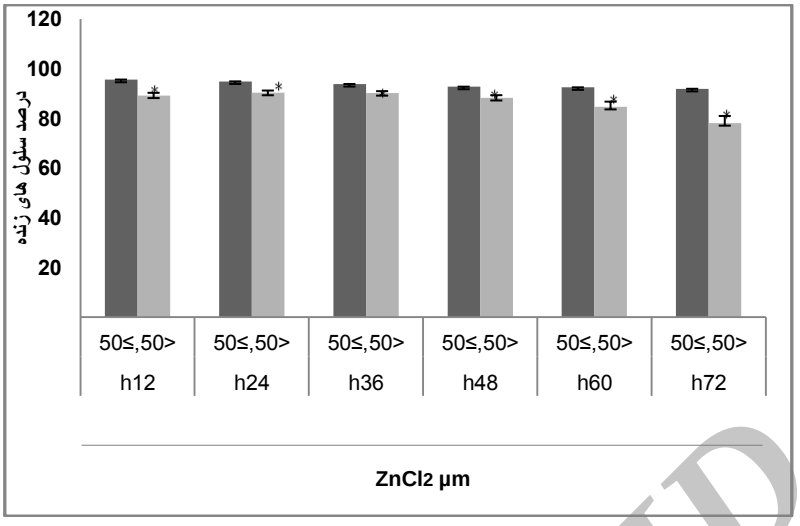


شکل ۱۲. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کلرید روی بر روی میانگین درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی T (مولت-۴) پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ ($p<0/05$) تفاوت معنی‌دار را با گروه کنترل نشان می‌دهد.

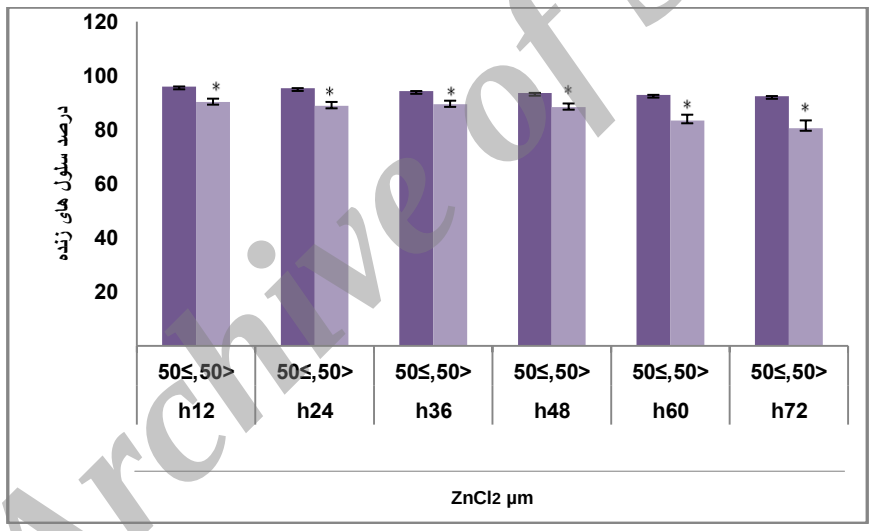
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱۳. مقایسه اثر مقادیر کمتر از ۵۰ µm کلرید روی با مقادیر مساوی و بیشتر از ۵۰µm کلرید روی بر روی درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی B در زمانهای مختلف انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ (p<۰/۰۵) تفاوت معنی‌دار را نسبت به گروه‌های ۵۰> نشان می‌دهد.



شکل ۱۴. مقایسه اثر مقادیر کمتر از ۵۰ µm کلرید روی با مقادیر مساوی و بیشتر از ۵۰µm کلرید روی بر روی درصد تعداد سلول‌های زنده رده لنفوئیدی T در زمان‌های مختلف انکوباسیون

* مقادیر کمتر از ۰/۰۵ (p<۰/۰۵) تفاوت معنی‌دار را نسبت به گروه‌های 50> نشان می‌دهد.

لنفوئیدی T کاهش یافته و عنصر روی سبب القا آپوپتوزیس و مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های مولت-۴ می‌گردد. نتایج این محقق نشان می‌دهد القا آپوپتوزیس و نکروزیس در سلول‌های مولت -۴ وابسته به فعالیت Caspase-3 نمی‌باشد (Michiko *et al.*, 2000) در مطالعه دیگر توسط این محقق نشان داده شد غلظت‌های ۲۰۰-۸۰ میکرومولار روی سبب ایجاد آپوپتوزیس در سلول‌های تیموس موش‌ها می‌گردد (Fraker and Telford, 1997) یافته‌های بدست آمده از تحقیق حاضر نیز با نتایج مطالعات Tokmehdashi (2006) که بر روی مخلوط سلول‌های راجی و مولت-۴ انجام شده است تفاوت معنی‌داری نداشت به طوری که در هر دو مطالعه در غلظت‌های بالاتر عنصر روی میزان درصد زنده ماندن سلول‌ها به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (Tokmehdashi, 2006). در مطالعه حاضر در شرایط آزمایشگاهی در حضور غلظت‌های ۴۰-۱ میکرومولار روی تعداد سلول‌ها زنده تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد ندارد. این مطلب می‌تواند موید این نکته باشد که روی در غلظت‌های زیر ۵۰ میکرومولار تأثیر سمی بر سلول‌های راجی و مولت-۴

Archive of SID

www.SID.ir

ندارد اما در حضور غلظت‌های بالاتر تأثیر سمیت سلولی به صورت کاهش تحمل سلولی و افزایش مرگ و میر در سلول‌های رده لنفوئیدی مشاهده می‌گردد این نتایج با مشاهدات دیگر که با استفاده از میکروسکوپ فلورسانس و رنگ‌آمیزی با Hoechst 33342 و Propidium Iodium (PI) انجام شده بود که نشان می‌داد فلز روی در مقادیر بالا باعث هم آپوپتوزیس و هم نکروز در سلول‌های مولت-۴ می‌شود، هم‌خوانی دارد. به طور کلی مطالعات محدودی درباره اثر کلرید روی در مقادیر پائین بر روی سلول‌های ایمنی و به-خصوص رده لنفوئیدی B و T به عمل آمده است. نتایج بدست آمده از مطالعه فوق نشان می‌دهد که عنصر روی در غلظت‌های معادل سطح فیزیولوژیک سرم خون (۱۲-۱۶ µm و در واقع کمتر از ۲۰ µm) (Chavakis, 1999) توسط سلول‌های لنفوئیدی B و T تحمل شده است و سبب کاهش تعداد سلول‌های زنده نمی‌گردد. اما در غلظت‌های چند برابر سطح فیزیولوژیک سرم خونی اثر سمیت سلولی بوسیله کاهش تحمل سلولی مشهود می‌باشد. از آنجا که روی باعث القا آپوپتوزیس و مرگ برنامه‌ریزی شده در بعضی از سلول‌های رده لنفوئیدی و سلول‌های موثر در دستگاه ایمنی می‌شود پس می‌توان در آینده به منظور ایجاد آپوپتوزیس و نکروزیس در سلول‌های سرطانی و کنترل رشد این سلول‌ها و جلوگیری از پیشرفت سلول‌های سرطانی از آن بهره برد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پژوهشی است که با حمایت مالی دانشگاه پیام‌نور انجام شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند تا از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه پیام‌نور و ریاست محترم دانشگاه پیام نور استان که در تصویب و اجرای این طرح پژوهشی همکاری نمودند، سپاسگزاری نماید. همچنین، از همکاری جناب آقای دکتر عمران حشمتی در مراحل مختلف این مطالعه، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

REFERENCES

A Campo C, Wellinghausen N, Faber C, Fischer A, Rink L (2000) Zinc inhibits the mixed lymphocyte culture.Biological Trace Element Research.

Butler M (2004) Animal cell culture technology. 2nd edit. Fifth chapt.87-112

Chavakis T, May AE, Preissner KT, Kanse SM (1999) Molecular mechanisms of zinc dependent leukocyte adhesion involving the urokinase receptor and ß2-integrins. Blood, 93: 2976-2983.

Crea A, Guerin V, Ortega F, Hartmann P (1990) Zinc and immune system. Annales Medicine interne, 141: 447-451.

Fraker PJ, Telford WG (1997) A reappraisal of the role of Zinc in life and death decisioris of cells. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 215: 229-236.

Keen CL, Gershwin ME (1990) Zinc deficiency and immune function.Annual Review of Nutrition, 10: 415-431

Michiko H, Kazuhiro I, Kazuhiro H, Ryoji I (2000) Zinc induces mixed types of cell death, Necrosis and apoptosis in Molt-4 cells. J Biochem, 128: 933-939.

Mills CF (1989) Zinc in human biology. Human Nutrition Reviews. London: Springer Verlag.

Overbeck S, Leigh Ackland M, Ford D, Rink L (2008) Intracellular Zinc homeostasis in leukocyte subsets is regulated by different expression of zinc exporters ZnT-1 to ZnT-9., (2008) Journal of Leukocyte Biology, 83: 368-380.

Patterson MK (1979) Measurement of growth and viability of cells in culture.Methods Enzymol, 58: 141-152.

Raulin J (1869) Etudes chimique sur la vegetation (chemical studies on plants). Annales des sciences naturelles botanique et biologie vegetal, 11: 293-299.

Rink L, Haase H (2007) Zinc homeostasis and immunity. Trends Immunol, 28, 1-4

Roussel AM, Facn Ak, Zouari N, Mahjoub S, Maheau JM, Anderson KA (2003) Antioxidant effects of Zinc supplementation in tunisians with type 2 Diabetes Mellitus, J AM College Nutr, 22: 316-321.

Saha AK, Haddea EM, Haddea JW (1995) Zinc inducers thymuline secretion from human thymic epithelial cells in vitro and augments splenocyte and thymocyte responses in vivo.International Journal of immunopharmacology, 17: 729-733.

Saki GH, Radan K, Radmard Sh. M, Rashidi I, Rahim F (2009) The effect of unilateral testicular blunt trauma and protective effect of Zinc on spermatogenesis of contra lateral testis of pre-pubertal wistar

Archive of SID

www.SID.ir

rat.J Qum Univ Med Sci, 3(1): 3-40

Siegel A, Sapru H (2006) Essential neuroscience. Eighteen edition, Philadelphia, P111-113.

Tokmehdashi H (2006) Comparison between the cytotoxic effects of zinc on Raji and Molt-4 cell line. Mazandaran Med Journal, 46(15): 25-30.

Vallee BL, Falchuk KH (1993) The biochemical basis of zinc physiology. Physiological Reviews, 73: 79-118.

Wellinghausen N, Kern WV, Jochle W, Kern P (2000) Zinc serum level in human deficiency virus infected patients in relation to immunological status. Biological Trace Element Research, 73: 79-89.

Archive of SID

www.SID.ir