بررسی فعالیت سلول‌های Tک هسته‌ای خون محيطی بانوان مبتلا به سندروم تغییرات پلی کیستیک در هم کشتن با لاین‌های سلول‌های توموری پستان در مقایسه با بانوان سالم

فاطمه رضایی‌پور، مهربان حاجی آقابا، دکتر زریمان مصطفا، دکتر هفیمه رمضانی تهرانی، دکتر مهران مصداقی

چکیده

مقدمه: سندروم تغییرات پلی کیستیک (PCOS) یکی از شایع‌ترین اختلالات غدد در بانوان است. حضور میکرویتی اتوآتومسپتالی (ATSF) به فاکتور اصلی این اختلال تلقی می‌شود. از دی‌یافته‌های جدید ساختار و نحوه کارکرد سلول‌های توموری در بانوان سالم و مبتلا به PCOS نتایجی بدست آمده است. در این مطالعه نتایج بررسی اثرات توموری پستان (MCF-7) بر سلول‌های توموری پستان سالم (MDA-MB-468) در حضور و اثرات درمانی MBMDCs به عنوان سلول‌های جذبچه‌ای است. برای بررسی تأثیرات این سلول‌ها بر گسترش سلول‌های توموری پستان (MCF-7) مدل از بانوان سالم و مبتلا به PCOS بکار گرفته شد.

کلمات کلیدی: سندروم تغییرات پلی کیستیک، سرطان پستان، همکنش، MBMDCs

مجله علم پزشکی و خدمات بهداشتی - دانشگاه علوم پزشکی ایران
دوره هفتم، شماره 1، صفحه‌های 127-130 (خرداد- تیر 1395)

BrdU, CD3+CD8+ و ۱۳۷۵۴۶۶

واژه کلیدی: سندروم تغییرات پلی کیستیک، سرطان پستان، همکنش، MBMDCs

دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۱/۱۲، پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۳/۲۸، دریافت نهایی: ۱۳۹۵/۳/۲۸

e-mail: ramezani@endocrine.ir
نتایج مطالعه انجام شده توسط پالاتز\(^{3}\) نشان داده که سرمی در مبتلا به PCOS مقدار TNF-\(\alpha\) افزایش یافته است.

از آن‌ها، سندرم تخم‌های پلی کیستیک (PCOS) (اوین بار در سال 1935 توسط پرزپن، مصنوع بیماری‌های زنان به نام تخم‌های سلوئی و لنترول به شکایت‌های ویکارد شد.

سندرم، نوعی احتیال تجمعی است که با علم و نقش انتگرالی، آفزایش آنزیم‌های (هاپر-اپرسنترولئوسم) در ناحیه تخمک یافته و چاقی (نامی‌په) توده‌ی بنی‌پیشتر از ۳۰ کیلوگرم در متر مربع) همراه است، که مجموعه‌ای از علائم

در تقسیم ۵۰ درصد از بیماران مبتلا به PCOS نیز می‌شود.

سندرم تخم‌های پلی کیستیک، شایع‌ترین اختلال غددی و مادی‌کره‌ای. از این بیماری است که شیوع آن در جمعیت مردان از این سال، ۵۰ درصد از زنان نسبت به ۱۵ درصد زنان‌های در جمعیت مردان است. در شرایط اکستروپسیون، این اختلال چهار درصد از جمعیت ایران بوده است.

پلی کیستیک خاصیت این اختلال در چندین مورد PCOS می‌تواند باعث شکل‌گیری و افزایش سرطان

گرد.

این مطالعه به هدف بررسی وجود ارتباط بین ابتلا به PCOS و احتیال بروز سرطان پستان، از دیدگاهی مولکولاریکی، می‌شود. بررسی سطح این مولدوم در بیماران PCOS در مواجهه با این سرطان توموری می‌تواند به این سمت که این مولدوم نمی‌تواند سرطان ناشی از توموری می‌باشد که در صورت این مدل، PCOS در مواردی از چنین مدل‌ها می‌تواند در شرایطی از آزمایش‌های از مدل‌های سرطانی مورد مطالعه قرار گرفته. برای بررسی

زمین و اختلالات خود اینم شیوع بیشتری دارد که شایع‌ترین تغییر در مدل‌های سرطانی از افراد مبتلا به PCOS مشاهده می‌گردد. در افزایش‌های این افراز افزایش یافته در افراد مبتلا توسط آدیپوپاتی‌ها، توپلی موشن و همان‌طور که پیشتر ذکر شد، در اغلب موارد اختلالی همراه با بروز چاقی تلقی می‌شود.


imamdor - Leventhal

iv - Paweleczak
v - Co-Culture

**Mقدمه**

سندرم تخم‌های پلی کیستیک (PCOS) (اوین بار در سال 1935 توسط پرزپن، مصنوع بیماری‌های زنان به نام تخم‌های سلوئی و لنترول به شکایت‌های ویکارد شد.

سندرم، نوعی احتیال تجمعی است که با علم و نقش انتگرالی، آفزایش آنزیم‌های (هاپر-اپرسنترولئوسم) در ناحیе تخمک یافته و چاقی (نامی‌په) توده‌ی بنی‌پیشتر از ۳۰ کیلوگرم در متر مربع) همراه است، که مجموعه‌ای از علائم

در تقسیم ۵۰ درصد از بیماران مبتلا به PCOS نیز می‌شود.

سندرم تخم‌های پلی کیستیک، شایع‌ترین اختلال غددی و مادی‌کره‌ای. از این بیماری است که شیوع آن در جمعیت مردان از این سال، ۵۰ درصد از زنان‌های در جمعیت مردان است. در شرایط اکستروپسیون، این اختلال چهار درصد از جمعیت ایران بوده است.

پلی کیستیک خاصیت این اختلال در چندین مورد PCOS می‌تواند باعث شکل‌گیری و افزایش سرطان

گرد.

این مطالعه به هدف بررسی وجود ارتباط بین ابتلا به PCOS و احتیال بروز سرطان پستان، از دیدگاهی مولکولاریکی، می‌شود. بررسی سطح این مولدوم در بیماران PCOS در مواجهه با این سرطان توموری می‌تواند به این سمت که این مولدوم نمی‌تواند سرطان ناشی از توموری می‌باشد که در صورت این مدل، PCOS در مواردی از چنین مدل‌ها می‌تواند در شرایطی از آزمایش‌های از مدل‌های سرطانی مورد مطالعه قرار گرفته. برای بررسی

لازم به ذکر است که این مدل‌ها در افزایش تعداد و توزیع این مدل‌ها و همان‌طور که پیشتر ذکر شد، در اغلب موارد اختلالی همراه با بروز چاقی تلقی می‌شود.

**ردیمی سلولی توموری**

ردیمی سلولی آدنوکارسینومای انسانی پستان به نام‌های MDA-۴۶۸ و MCF-۷ و MCF-۷ یا MDA-۴۶۸ از پات لولی مرکز دانشگاهی از این سلولی‌ها به نام‌های دانشگاهی که در فلیکس، خریداری شد. به‌طور کلی‌ای، یک بانک مورد تکنیک‌های فلیکس و چرخش‌های مختلف در مورد سلول‌های پستان مورد استفاده شد.

**مواد و روش‌ها**

**پیش‌بینی و همکاران**

**پیش‌بینی و همکاران**
محفصل رتراسول های چاکه‌ها قرار داده شدند. سلول‌های حاضر در یک از چاکه‌های دارای رتراسول از نظر محیط کشت مطلقو با اختصاصیت سر=SLO کشت شده در محفصل پایینی چاکه، تطبیق داده شدند. به منظور کنترل شرایط آزمون هیپوکسی، برای هر نمونه، کشت در چاکه بدون رده سلول‌های توموری نیز در نظر گرفته شد.

سنگش سلعت سایتکاپین ۴ (R&D SYSTEMS, USA) با حساسیت یک پیک‌گرم در دسی‌لیر تعبیه شد.

پاسک تکثیر سلول‌های دست نشانه‌گری با برومورانکز برای کشت در راکزر، در فواصل زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از روش ایرای (R&D SYSTEMS, USA) با حساسیت یک پیک‌گرم در دسی‌لیر تعبیه شد.

IOTF-۴ و D3-PE (Gibco) لگاریتمی سلول‌های از محیط کشت در دارایی ۱۰ ردیف FBS و درصد پنی‌سیلین/ استروئومایسین استفاده شد. سلول‌های ۲، ۴، ۶، ۷ و ۹ ردیف FBS و درصد RPMI ۱۶۴۰ (Gibco) درصد پنی‌سیلین/ استروئومایسین کشت داده شد. انکوباسیون سلول‌های در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد و اتسفر دارایی ۵ ردیف CO2 و رطوبت ۸۰ درصد اندازه‌گیری شد.

نمونه‌گیری

به منظور تهیه سلول‌های تک‌ستاتیو خون محیطی، از یک دست در نظر گرفته، محیط سلول‌های میزان برومورانکز با استفاده از روش ایرای (Roche Diagnostic, Germany) و پروپانیل (Roche Diagnostic, Germany) بود. در بندن ترکیب اکسترا سلول‌های دست نشانه‌گر در ظرف ۳۵۰، ۵۰۰ و ۶۵۰ سیکل برای کشت در راکزر، در فواصل زمانی ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت با استفاده از روش ایرای (R&D SYSTEMS, USA) با حساسیت یک پیک‌گرم در دسی‌لیر تعبیه شد.

اینوتروف‌پنیون سلول‌های تک‌ستاتیو

به منظور تعیین درصد فیتوسیت‌های T سایتکوکسیک (CD3+CD8+) و اسکاتلیدهای اسکت (CD19-) با استفاده از روش ایرای (Gibco, U.K) غلظت‌بندی سلول‌ها از فاکتور های‌کنترل (Gibco, U.K) ۱۰۷ و سلول‌های کنترل دست نشانه‌گر، در ظرف ۳۵۰، ۵۰۰ و ۶۵۰ ساعت ترکیب یک پیک‌گرم در دسی‌لیر تعبیه شد.

سیستم هیپکستن

۲۲ ساعت قبل از مرحله کشت، ابتدا در نمونه‌های با برومورانکز (SPL, Korea) پلیت ۲۴ حانه مخصوص سیستم هیپکستن تعادل ۵۰۰ سلول توموری کشت داده شدند. پس از اطمنان از تقریب کامل سلول‌ها، به تعادل ۵۵% سلول تک‌ستاتیو در

iv- 5-bromo-2'-deoxyuridine
v- Phycoerythrin
vi -Fluorescein Isothiocyanate

i- Dulbecco's Modified Eagle's medium
ii- Fetal Bovine Serum
iii - Roswell Park Memorial Institute
پایه‌ها

افزایش میانگین تکثیر در سلول‌های تک‌مستهای تحت مکشیتی نسبت به کنترل در ابتدا افزایش گروه میتال به عنوان سایتونی و جویه TNF-α صبح ساعت ۱۲ از نظر سایتونی و جویه TNF-α خاصیت برای وجود الکتریکی میزان در داده‌های تکثیر از رده‌های سلولی توموری MDA-468 و MCF-7 و همچنین شرایط کشت در گیاه سلول‌های توموری (single culture) مقایسه شدند که نتایج آن در نمودار ۱ نشان داده شده است.

نمودار ۱- مقایسه میانگین تکثیر سلول‌های تک‌مستهای تحت تاثیر همکشیت با رده‌های سلولی توموری پستن و کنترل.

در هر دو گروه مورد مطالعه، میزان تکثیر در PBMCs،‌ پیش‌بینی کننده و ساده‌ترین از نظر میزان تکثیر سلولی (single culture) بیشتر بود. تفاوت معناداری بین نیز ساده تکثیر پستن (P<0.05) مشاهده نشد. علاوه بر پیشنهاد این مقایسه در PBMCs،‌ همکشیت با MDA-468 و MCF-7 مشاهده نشد. علاوه بر پیشنهاد این مقایسه در PBMCs،‌ همکشیت با MDA-468 و MCF-7 مشاهده نشد. علاوه بر پیشنهاد این مقایسه در PBMCs،‌ همکشیت با MDA-468 و MCF-7 مشاهده نشد.

ب

الف

براساس نتایج تکثیر نفوذی و الکتریکی همکشیت، بین دو گروه سالمند و میتال باید توجه به وجود رشد اندک در چاه‌پیمان کنترل، در ابتدا چند نوری خواهد شد به کنترل از جنبه نوری خواهند شد که میتواند کنترل چاه‌پیمان (به عنوان سطح پایه) کسی شد بپرسن داده‌های به دست آمده بین دو گروه سالمند و میتال نهایی مقایسه قرار گرفتند (نمودار ۲).

مقدار تاکید تکثیر نفوذی و الکتریکی همکشیت، بین دو PCOS گروه سالمند و میتال باید توجه به وجود رشد اندک در چاه‌پیمان کنترل، در ابتدا چند نوری خواهد شد به کنترل از جنبه نوری خواهند شد که میتواند کنترل چاه‌پیمان (به عنوان سطح پایه) کسی شد بپرسن داده‌های به دست آمده بین دو گروه سالمند و میتال نهایی مقایسه قرار گرفتند (نمودار ۲).
نمودار ۲- مقایسه میانگین تکثیر سلول‌های تک‌ستاتیک تحت همبستگی با هر کدام از رده‌های توموری، در دو گروه سالم و PCOS میثلاً به ۲۲ ساعت (الف) در گروه میثلاً به طور معنی‌داری نسبت به گروه سالم بهتر است (P<۰/۰۵). میانگین تکثیر در همبستگی ۲۲ ساعت (ب) نیز در گروه میثلاً به طور معنی‌داری نسبت به گروه سالم افزایش داشت. این نتایج برای همبستگی با هر دو رده سلول توموری مشابه بود. علامت ® نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است.

بررسی روند افزایشی میانگین تکثیر سلول‌های تک‌ستاتیک در ۲۲ ساعت (الف) و ۷۳ ساعت (ب)؛ در دو گروه سالم و PCOS (MCF-7 و MDA-468) بیان می‌شود. نتایج نشان می‌دهد که در هر دو رده سلولی کاهش معنی‌داری در نسبت غیر معنی‌داری آماری، در دو گروه سالم و PCOS مشاهده شده است.

نمودار ۲- مقایسه میانگین تکثیر سلول‌های تک‌ستاتیک در همبستگی با هر کدام از رده‌های سلولی توموری، در دو گروه سالم و PCOS میثلاً به ۲۲ ساعت (الف) در گروه میثلاً به طور معنی‌داری نسبت به گروه سالم بهتر است (P<۰/۰۵). میانگین تکثیر در همبستگی ۲۲ ساعت (ب) نیز در گروه میثلاً به طور معنی‌داری نسبت به گروه سالم افزایش داشت. این نتایج برای همبستگی با هر دو رده سلول توموری مشابه بود. علامت ® نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است.

بررسی روند افزایشی میانگین تکثیر سلول‌های تک‌ستاتیک در ۲۲ ساعت (الف) و ۷۳ ساعت (ب)؛ در دو گروه سالم و PCOS (MCF-7 و MDA-468) بیان می‌شود. نتایج نشان می‌دهد که در هر دو رده سلولی کاهش معنی‌داری در نسبت غیر معنی‌داری آماری، در دو گروه سالم و PCOS مشاهده شده است.
۷۲ ساعت

۴۸ ساعت

CD3+CD8+ (%)

MDA468

MCF7

CD3+CD8+ (%)

MDA468

MCF7

CD3+CD8+ (%)

MDA468

MCF7

CD3+CD8+ (%)

MDA468

MCF7

CD3+CD8+ (%)

MDA468

MCF7

CD3+CD8+ (%)

MDA468

MCF7

CD3+CD8+

T cells

نمونه‌های کشیده توموری پستان در تدریس نیاز به ترکیب‌های مختلفی از بافت‌های سلول‌‌های مختلفی مورد استفاده قرار می‌گیرند که این نتایج به ما امکان می‌دهد تا با هر نوع بافتی که در جامعه توموری پستان وجود داشته باشد، واکنشات پاسیون‌‌ها را بررسی کنیم. در مسیر این نتایج، بافت‌های سلول‌‌های مختلفی در ترمیم و تغییرات آنها نقش اصلی دارند. در همین راستا، در این مطالعه، تأثیر افزایش یافته CD3+CD8+ بیشتر به ترتیب این نتایج و بررسی زمان‌بندی، به‌طور کلی بافت‌های توموری پستان، به شکل کلی به سلول‌های CD3+CD8+ افزایش یافته، تأثیر مثبتی بر روی زمان‌بندی و تغییرات آنها را دارند.
References


Original Article

The Study of Peripheral Blood Mononuclear Cells Activity of Women with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) by co-culture with Breast Cancer Cell Lines Compared with the Healthy Controls

Rezayat F1, Hajiaghaei M1, Mosaffa N1, Ramezani Tehrani F2, Mesdaghi M1

1Department of Immunology, Faculty of Medicine, & 2Reproductive Endocrinology Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran

e-mail: ramezani@endocrine.ac.ir

Received: 02/02/2016 Accepted: 01/06/2016

Abstract

Introduction: Polycystic ovary Syndrome (PCOS) is one of the most prevalent endocrinology disorders in women, in whom the state of systemic inflammatory cytokines, especially TNF-α is the main reason for immunological disturbances. Some PCOS manifestations such as infertility, hyperandrogenism, obesity and chronic inflammation are considered as risk factors for breast cancer. The risk of developing breast cancer in women with PCOS is being investigated in some epidemiological studies. In this research, the ability of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of women with PCOS to develop antitumor response was studied and evaluated using an experimental co-culture approach between PBMCs and breast tumor cell lines. Materials and Methods: PBMCs were isolated from 50 heparinized venous blood samples (patient and healthy groups) by density gradient centrifugation byficoll. Breast cancer cell lines (MDA-MB-468 and MCF-7) were incubated as two target cells and were cultured adjacent to PBMCs in a transwell co-culture system. At different time intervals (48 and 72 hours) after co-culture, the proliferation rate of the effectors cells was evaluated by the BrdU cell proliferation assay. Determination of T CD3+CD8+ lymphocytes was determined by flow cytometry. Results: The proliferation of PBMCs after 48 hours of co-culture with MDA-468 (P=0.002) and MCF-7 (P=0.021) was significantly higher in the PCOS group compared to healthy controls. No pronounced differences were observed in T CD3+CD8+ cell numbers between the PCOS group and healthy controls (P>0.05) although T CD3+CD8+ percentage increased after 72 hours of co-culture in most samples. There was no statistically significant difference between MDA-468 and MCF-7 co-cultures in any of the tests. Conclusion: The stimulation threshold for mononuclear cells was reduced in women with PCOS. Differences between proliferation responses of PCOS and control groups may be caused by a chronic inflammatory condition in these patients.

Keywords: Polycystic ovarian syndrome, Breast cancer, co-culture, CD3+CD8+, BrdU