

بررسی اثر مهارگرهای مسیرهای انتقال پیام داخل سلولی بر میزان بیان CXC کموکین IP-10/Mob-1 توسط هپاتوسیتها

دکتر غلامحسین حسن شاهی راویز*^۱، محمدرضا حاجی زاده^۲، محمدرضا میرزایی^۳، دکتر علی اصغر پورشانظری^۴، دکتر محمدابراهیم رضوانی^۵، دکتر رضا وزیری^۶، دکتر آن دیکسون^۷

چکیده

مقدمه: کموکین ها مولکولهای پروتئینی کوچکی هستند که باعث بسیج سلولهای ایمنی به محل‌های آسیب دیده جهت از بین بردن عوامل عفونی، سلولهای آلوده و ترمیم بافتها می شوند. از جمله کموکین های مهم IP-10/Mob-1 می باشد. سلولها در پاسخ به عوامل تحریکی مختلفی اقدام به بیان این کموکین می کنند. برای انتقال پیام تحریکی به داخل سلول، سلولها از مسیرهای مختلفی استفاده می کنند. هدف از این مطالعه بررسی مسیرهای احتمالی انتقال پیام برای کنترل تولید کموکین IP-10/Mob-1 توسط سلولهای هپاتوسیت است.

روش بررسی: این مطالعه از نوع تجربی آزمایشگاهی است که بر روی سلولهای کبد موش صحرایی نر از نژاد Sprague – Dawley جداسازی (برای هر آزمایش از ۸ نمونه استفاده شد) و در محیط کشت Weymouth MD ۱۲۷۱ در زمانهای معین در حضور مهار کننده های استرپورین، KN62، MG132 و SB203580 در غلظتهای مختلف انکوبه، شدند سپس مایع رویی محیط کشت به وسیله سانتریفوژ از سلولها جدا شد. پروتئینهای موجود در این مایع توسط تکنیک SDS-PAGE از هم تفکیک شدند و سپس به غشای نیتروسولوزی منتقل شدند. بعد از انکوبه کردن غشای حاوی کمپلکس IP-10/Mob-1 با آنتی بادی ضد آن، این غشای با آنتی بادی ثانویه نشاندار با پراکسیداز تریچه انکوبه شد و پس از آن مقدار و محل پروتئین IP-10/Mob-1 با تکنیک کمولایسنس (ECL) اندازه گیری شد.

نتایج: بیان کموکین IP-10/Mob-1 در حضور مهارگرهای اختصاصی مختلف شامل استرپورین (۵ μM و ۱۰ μM)، KN62 (۱۰ μM و ۲۰ μM)، MG132 و SB203580 در غلظتهای ۲۰ μM و ۵۰ μM مهار شد (P<0.05) اما در غلظت های پایین و در عدم حضور مهار کننده ها بیان گردید.

نتیجه گیری: بررسی نتایج ممکن است به درک بهتر مسیرهای انتقال پیام در بیماریهای مزمن کبد و همچنین درمان و پیشگیری از بیماریها کمک کند. به علاوه با توجه به اینکه هپاتوسیتها پس از جداسازی وارد فاز غیر متمایز می گردند، نتایج این تحقیق ممکن است به نگهداری حالت متمایز سلولهای هپاتوسیت در محیط کشت اولیه کمک کند. همچنین با توجه به اینکه تمام مهارگرها قادر به مهار نسبی بیان IP-10/Mob-1 بودند می توان نتیجه گرفت که سلولهای هپاتوسیت از تمامی این مسیرها برای انتقال پیام تحریکی به درون سلول استفاده می کنند.

واژه های کلیدی: کموکین، سلولهای هپاتوسیت، IP-10/Mob-1، استرپورین، KN62، MG132، SB203580.

مقدمه

کموکین ها مولکولهای پروتئینی کوچکی هستند که یکی از نقشهای آنها بسیج سلولهای ایمنی به محل‌های آسیب دیده جهت

* نویسنده مسئول: استاد یار گروه هماتولوژی، دانشکده پزشکی
تلفن: ۰۵۲۳۴۰۰۴ - ۰۳۹۱، تلفن همراه: ۰۹۱۳۳۹۱۳۲۶۴

Email: ghassanshahi@yahoo.co.uk

۲- مربی گروه بیوشیمی - دانشکده پزشکی

۳- فوق لیسانس ژنتیک، عضو هیئت علمی (مربی) دانشکده پزشکی

۴- ۵۰۴ استاد یار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی

۶- استاد یار گروه اپیدمیولوژی

۷- ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۷- ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶- ۱۳۸۵ دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی رفسنجان.

۷- استاد گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه متچستر

تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۵/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۵/۱۲/۲۴

از بین بردن عوامل عفونی، سلولهای آلوده و ترمیم بافتها می باشد^(۱). از جمله کموکین های مهم می توان به IP-10/Mob-1 (Interferon-γ Inducible protein-10) اشاره کرد. IP-10/Mob-1 (پروتئین افزایش یافته تحت تأثیر اینترفرون گاما) برای اولین بار در سلولهای U937 (یک سلول لنفوسیت با خصوصیات مونوسیت) شناسایی شد^(۱،۲). ژن IP-10/Mob-1 انسانی از ۳ اینترون و ۴ اگزون ساخته شده است^(۳،۴). بخش عمده ناحیه کنترل و تنظیم نسخه برداری در این ژن در پاسخ به IFN

KN62 با کالمودولین در اتصال به Ca^{2+} رقابت می کند (۱۲،۱۳). استاروسپورین (یک آلکالوئید که از باکتریها به دست می آید) دارای اثرات وسیع مهارگری و تحریکی است. این ماده اثر مهاري خود را به طور غیر اختصاصی بر ضد طیف وسیعی از سرین/ترئونین کینازها انجام می دهد (۱۴). این تحقیق بر اساس یافته های سایر محققین در بیان کموکینها به وسیله سیستمهای سلولی و تعمیم آن به سلولهای کبدی پی ریزی شده است و بنابراین ما در این تحقیق مسیرهای تنظیم کننده بیان کموکین IP-10/Mob-1 را در سلولهای کبدی در حضور و غیاب (کنترل) مهارگرهای مسیرهای فوق الذکر، بررسی نموده ایم.

روش بررسی

الف) جداسازی هیپاتوسیتها: این مطالعه از نوع Clinical-Trail است که بر روی سلول های موش صحرائی نر از نژاد Sprague - Dawley (واحد BSU دانشگاه منچستر) با وزن تقریبی ۲۰۰g جداسازی شده اند که برای هر آزمایش از ۸ حیوان نمونه تهیه گردید. با استفاده از بافر Krebs-Henseleit در شرایط استریل از کبد حیوان جدا شده اند. پس از ۱۰-۸ دقیقه، کبد برداشته شده و در شرایطی کاملاً استریل به همراه بافر Krebs - Henseleit خرد شده و از میان یک قطعه گاز استریل به داخل یک بشر فیلتر شده است. سلول ها برای سه بار با محلول فوق شسته شده، به طوری که در هر شستشو ته لوله با محلول رقیق گردیده دوباره سانتریفوژ گردیده است. توده نهایی سلول های کبدی در داخل محلول محرک (محتوی محیط کشت ۱۷۲۱ Weymouth MD ساخت شرکت اینویتروژن انگلستان) منتقل و میزان درصد زنده بودن سلولها با استفاده از تریپان بلو مشخص شده است. دسته ای از سلول های کبدی مورد استفاده قرار گرفته اند که میزان درصد سلول های زنده آنها بیش از ۸۵٪ و اکثراً در محدوده ۹۵-۹۰٪ بوده است. جمعیت هیپاتوسیت ها در زیر میکروسکوپ نوری کنترل گردیده و خلوص سلول های کبدی در بهترین حالت بوده و حضور سلول های اندوتلیال در محیط کشت از ۱٪ تجاوز نمی کرده است. در هر پلیت (۶ سانتی متری) که از کلاژن نوع I پوشیده شده بوده است تعداد $10^6 \times 5-2$ سلول در هر میلی لیتر محلول القاء کاشته شده است و پس از آن به انکوباتور (۵٪ CO_2 ، ۹۵٪ O_2) در دمای

γ (Interferony) و LPS (Lipopolysaccharide) در ناحیه ای با حدود ۲۳۰ جفت باز در قسمت فوقانی محل نسخه برداری این ژن وجود دارد (۵). این ناحیه حاوی قسمتهای تنظیم کننده ای برای الحاق AP-1 (Activated Protein)، NF- κ B (Nuclear factor- κ B) و دیگر عناصر تنظیمی از قبیل عناصر پاسخ دهنده به تحریکات ناشی از اینترفرون (ISRE/Interferon Sequence response element)، محل پاسخ به شوک حرارتی و غیره می باشد (۵). تحقیقات مختلفی برای پیدا کردن مسیر انتقال پیام تحریکات خارج سلولی به داخل سلول، جهت فعال سازی بیان IP-10/Mob-1 روی سلولهای مختلفی انجام شده است (۵-۷). این تحقیقات مسیرهای متعددی را برای هر سلول بیان می کنند، به گونه ای که اکثر مطالعات مسیر وابسته به NF- κ B را دخیل می دانند (۸). با وجود شناخته شدن این مسیر در انتقال پیامهای تحریکی خارج سلولی جهت افزایش بیان IP-10/Mob-1 مشاهده گردیده است که IP-10/Mob-1 که در صورت نبود یا مهار این مسیر، باز هم در پاسخ به عوامل محرک مقداری بیان می شود (۸). بنابراین محققین دیگر مسیرها را نیز در این انتقال پیام دخیل دانسته اند. از جمله این مسیرها می توان به مسیر وابسته به سرین/ترئونین کینازها اشاره کرد (۶). از جمله اعضای سرین/ترئونین کینازها می توان به موارد زیر اشاره نمود: ۱. پروتئین کیناز وابسته به cAMP (PKC) (۶) ۲. پروتئین کیناز وابسته به cGMP و پروتئین کیناز وابسته به کلسیم/کالمودولین (Ca²⁺ /CAMK-II) (۵) ۳. MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase) (۶).

ما در این تحقیق به بررسی نقش مسیرهای NF- κ B، P³⁸، Ca²⁺/CAMK-II در انتقال پیام تحریکی برای بیان IP-10/Mob-1 توسط سلولهای کبدی متعاقب جداسازی از کبد پرداختیم و به این منظور به ترتیب از مهار کننده های MG132، SB203580، KN62 و استر اسپورین استفاده کرده ایم. MG132 پپتیدی با توالی 2-Leu- Leu- Leu-H است که قادر به مهار پروتئوزوم تجزیه کننده I κ B (مهار کننده NF- κ B) می باشد (۹،۱۰). SB203580 پیرین ایمیدازولی است که به عنوان سرکوبگر P³⁸ عمل می کند (۱۱). SB203580 از طریق رقابت با ATP برای اتصال به P³⁸، به جایگاه اتصالی به ATP متصل شده و از این طریق P³⁸ را مهار می کند (۱۲). KN62 مهارگر اختصاصی مسیر پروتئین کیناز وابسته به کلسیم/کالمودولین (Ca²⁺ /CAMK-II) می باشد

شستشوی غشاهای نیتروسولوزی محتوی کمپلکس کموکین-آنتی بادی، این غشاها با استفاده از آنتی بادی ثانویه ای که با پراکسیداز تریچه نشاندار شده بود رنگ آمیزی شد. پس از آن مقدار و محل پروتئین IP-10/Mob-1 با تکنیک کمولایسنس (ECL) اندازه گیری شد.

تمامی داده های تحقیق بر اساس $\text{mean} \pm \text{SEM}$ بیان گردیده است و مقایسه بین گروه های آماری (ساعت های مختلف بیان ژن) با Paired Student t. test انجام شده است و اختلاف زمانی معنی دار تلقی گردیده است و $P < 0.05$ سطح معنی داری در نظر گرفته شده است.

نتایج

بررسی داده های به دست آمده از این تحقیق نشان داد که استرسپورین در غلظتهای $5 \mu\text{M}$ و $10 \mu\text{M}$ باعث یک کاهش قابل ملاحظه در بیان IP-10/Mob-1 شد در حالی که در غلظت های پایین تر ($5-10 \mu\text{M}$ میکرومول) دارای چنین اثری نبود (شکل ۱). هپاتوسیتها را مهار نمود (شکل ۲) به گونه ای که در غلظتهای $10 \mu\text{M}$ و $20 \mu\text{M}$ بیان IP-10/Mob-1 به میزان زیادی کاهش یافت اما در غلظتهای پایین تر چنین اثری مشاهده نشد. به علاوه بررسی های آماری نتایج نشان داد که در غلظتهای $20 \mu\text{M}$ و $50 \mu\text{M}$ از MG132 یک تفاوت قابل ملاحظه ای در بیان IP-10/Mob-1 مشاهده می شود. اما این تفاوتها در غلظت های کمتر مشاهده نشد (شکل ۳) همانگونه که در (شکل ۴) مشاهده می شود در حضور غلظت بالای SB203580 تولید IP-10/Mob-1 متوقف می شود. در حالی که در غلظتهای پایین ($10 \mu\text{M}$ تا $1 \mu\text{M}$) این اثر مهاري مشاهده نشد. به گونه ای که افزایش از $20 \mu\text{M}$ تا $50 \mu\text{M}$ کاهش قابل ملاحظه ای در بیان IP-10/Mob-1 ایجاد می کند. همچنین نتایج در جدول (۱) براساس میانگین و پراکندگی آمده است.

37°C منتقل گردیده است. پس از گذشت ۳ ساعت از کشت، محیط کشت حاوی محلول نگهدارنده (حاوی BSA و سدیم اولیات) تعویض گردیدند و با مهر کننده های مختلف بیا غلظت های زیر تیمار شدند الف) ۱ میکرومول استرسپورین، ۱۰ میکرومول استرسپورین، ۲۰ میکرومول استرسپورین، ۵۰ میکرومول استرسپورین و کنترل (بدون استرسپورین).

ب) ۱ میکرومول KN62، ۱۰ میکرومول KN62، ۲۰ میکرومول KN62؛ ۵۰ میکرومول KN62 و کنترل (بدون KN62). ج) ۱ میکرومول MG132؛ ۱۰ میکرومول MG132؛ ۲۰ میکرومول MG132؛ ۵۰ میکرومول MG132 و کنترل (بدون MG132).

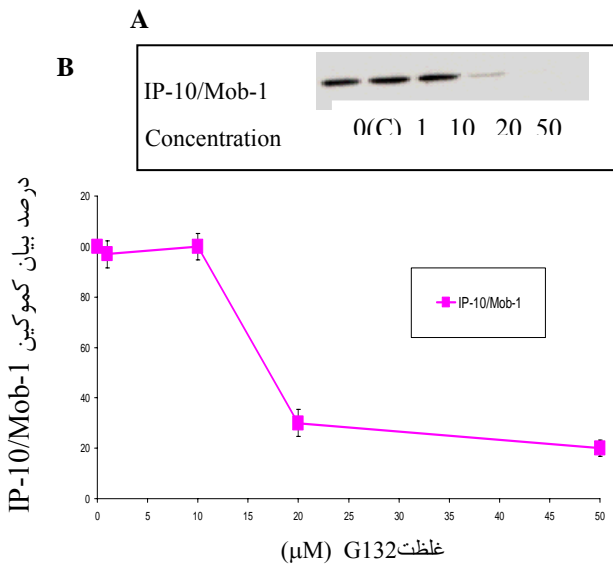
د) ۱ میکرومول SB203580، ۱۰ میکرومول SB203580، ۲۰ میکرومول SB203580، ۵۰ میکرومول SB203580 و کنترل (بدون SB203580).

ج) بررسی بیان پروتئینها توسط وسترن بلائینگ

بعد از ۳ ساعت از کشت سلولها در محیط کشت و در حضور مهار کننده های مختلف قسمت بالایی محیط کشت برداشت و سانتریفوژ گردید و محیط کشت سانتریفوژ شده برای انجام SDS-PAGE آماده و بر روی آن SDS-PAGE انجام گردید. برای انجام این کار مقدار مساوی (۳۵ میکروگرم) از هر پروتئین به هر چاهک ژل SDS-PAGE اضافه شد و طی الکتروفورز عمودی از هم جدا گردید. پس از اتمام SDS-PAGE که حدود ۴۵-۴۰ دقیقه به طول می کشید، پروتئینهای جدا شده از روی ژل به غشای نیتروسولوز منتقل شد و سپس توسط محیط Phosphate Buffer Solution Tween20 (PBST) (حاوی ۱۰ میلی مولار تریس، ۱۴۰ میلی مولار کلرید سدیم، ۱٪ تووین ۲۰ و $\text{pH} = 7.4$) حاوی ۳٪ شیر خشک بلوکه گردیده است. غشاهای نیتروسولوز یک شب در 4°C با آنتی بادی ضد کموکین IP-10/Mob-1 (کمپانی کموکین آمریکا) انکوبه شد. متعاقباً روز بعد پس از

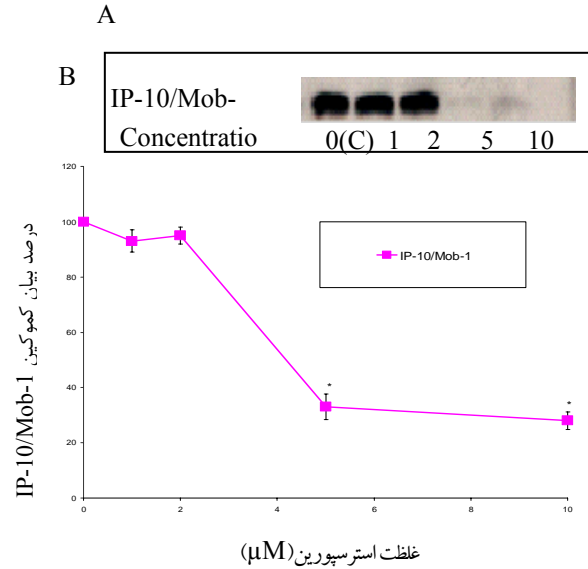
جدول ۱: میزان بیان IP-10/Mob-1 در غلظت های مختلف مهار کننده در مقایسه با عدم حضور مهار کننده بر حسب $\text{MEAN} \pm \text{SD}$

غلظت مهار کننده	۱۰ میکرومول	۲۰ میکرومول	۵۰ میکرومول
KN62	101.4 ± 19.3	67 ± 18.8	44.2 ± 16.7
MG132	109.2 ± 19.6	57.7 ± 20.2	41.2 ± 12.2
SB	112.6 ± 19.9	40 ± 12.8	34.8 ± 13.7
استرسپورین	94.8 ± 8.7	33.4 ± 13.1	28.1 ± 9



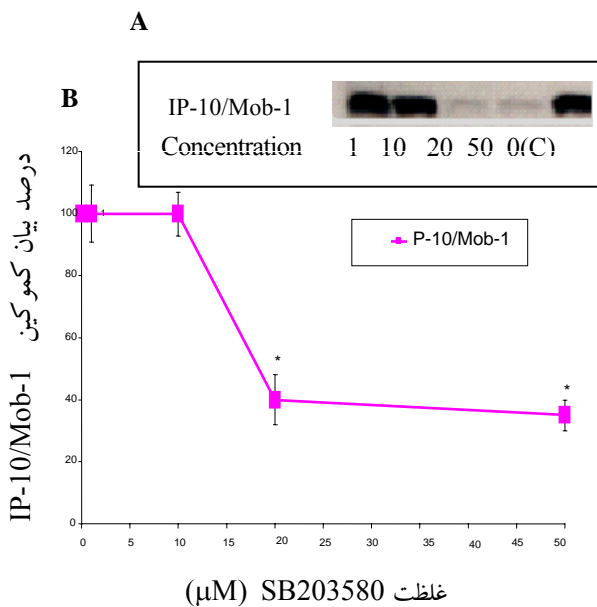
شکل ۳. بیان CXC کموکین IP-10/Mob-1 به وسیله هیپاتوسیتها در حضور و غیاب MG132

(A) تصویر ایمونوبلاتینگ از پروتئین IP-10/Mob-1 در سلولهای کنترل و سلولهای تحت اثر غلظتهای مختلف MG132. (B) بیان IP-10/Mob-1 در سلول های کنترل (تحریک نشده با MG132) به عنوان بیان ۱۰۰٪ بیان شده و سایر غلظتها بخشی از این بیان می باشند ($P < 0.05$) نسبت به کنترل).



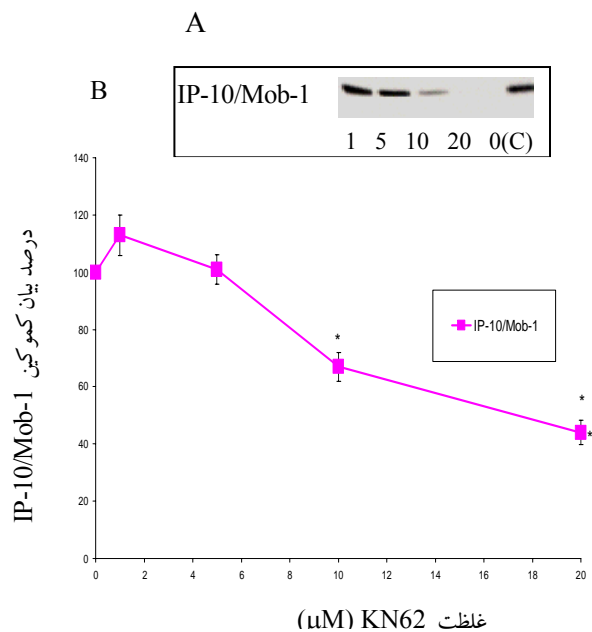
شکل ۱. بیان CXC کموکین IP-10/Mob-1 به وسیله هیپاتوسیتها در حضور و غیاب استروپورین

(A) تصویر ایمونوبلاتینگ از پروتئین IP-10/Mob-1 در سلولهای کنترل و سلولهای تحت اثر غلظتهای مختلف استروپورین. (B) بیان IP-10/Mob-1 در سلول های کنترل (تحریک نشده با استروپورین) به عنوان بیان ۱۰۰٪ بیان شده و سایر غلظتها بخشی از این بیان می باشند ($P < 0.05$) نسبت به کنترل).



شکل ۴. بیان CXC کموکین IP-10/Mob-1 به وسیله هیپاتوسیتها در حضور و غیاب SB203580

(A) تصویر ایمونوبلاتینگ از پروتئین IP-10/Mob-1 در سلولهای کنترل و در سلولهای تحت اثر غلظتهای مختلف SB203580. (B) بیان IP-10/Mob-1 در سلول های کنترل (تحریک نشده با SB203580) به عنوان بیان ۱۰۰٪ بیان شده و سایر غلظتها بخشی از این بیان می باشند ($P < 0.05$) نسبت به کنترل).



شکل ۲. بیان CXC کموکین IP-10/Mob-1 به وسیله هیپاتوسیتها در حضور و غیاب KN62

(A) تصویر ایمونوبلاتینگ از پروتئین IP-10/Mob-1 در سلولهای کنترل و در سلولهای تحت اثر غلظتهای مختلف KN62. (B) بیان IP-10/Mob-1 در سلول های کنترل (تحریک نشده با KN62) به عنوان بیان ۱۰۰٪ بیان شده و سایر غلظتها بخشی از این بیان می باشند ($P < 0.05$) نسبت به کنترل).

بحث

در این مطالعه با ایجاد استرس ناشی از جداسازی بافت مسیرهای NF- κ B، سرین/ترئونین کینازها، پروتئین کیناز وابسته به کلسیم/کالمودولین و P³⁸ در انتقال پیام تحریکی (ناشی از استرس جداسازی از بافت) منجر به بیان IP-10/Mob-1، مشاهده شد. همچنین در پژوهش ما بیان IP-10/Mob-1 در سلولهای هپاتوسیت کشت شده اولیه به وسیله غلظتهای بالاتر از ۲۰ μ M از MG132 مهار شد. که این میزان غلظت به کار گرفته شده براساس غلظتهای به کار رفته در مطالعات گذشته انتخاب شد^(۱۰) دیگر مطالعات روی هپاتوسیتها که نتایجی مشابه یافته های ما داشت، نشان می دهد که بیان IP-10/Mob-1 در سلولهای تحت اثر استرس ناشی از جدا سازی از بافت، به وسیله مسیر NF- κ B تنظیم می شود^(۱۵). تا کنون هیچ مطالعه ای اثر MG132 را در مهار بیان کموکاینها در هپاتوسیتها بررسی نکرده است اما اثر مهار MG132 روی مسیر NF- κ B و بیان کموکاینها روی سایر سلولهای نشان داده شده است همان طور که قبلاً اشاره شد این مهارکننده باعث مهار مسیر پیام رسانی از طریق مسیر وابسته به NF- κ B می شود. سلولهای مختلف جهت انتقال پیام می توانند از مسیرهای مختلفی استفاده کنند که مسیر وابسته به NF- κ B از آن جمله است^(۸). در مطالعاتی که این مسیر به اثبات رسیده است به نظر می رسد که پاسخ سینرژی سلولهای کراتینوسیت به TNF- α و IFN- γ به افزایش بیان IP-10/Mob-1 در پاسخ به هر دو این سیگنالها به دلیل وجود هر دو منطقه تنظیمی NF- κ B و ISRE در پروموتور ژن IP-10/Mob-1 باشد^(۱۶) همچنین نتایج تحقیقات نشان داده است که در سلولهای آسینار پانکراس، کوله سیتوکینین-۸ باعث افزایش بیان IP-10/Mob-1 از مسیر NF- κ B بوده است. به گونه ای که با مهار مسیر NF- κ B، جلوی تجزیه کمپلکس I κ B;NF- κ B گرفته و متعاقباً بیان IP-10/Mob-1 متوقف شد^(۱۷) و نیز در مطالعه ای تحریک سلولهای مزانشیال کلیه با TNF- α و IFN- γ نیز منجر به افزایش بیان IP-10/Mob-1 از مسیر NF- κ B گردیده است^(۱۸). باید متذکر شد که TNF- α و IFN- γ از هر دو مسیر NF- κ B و کمپلکس STAT-1 α برای تحریک بیان IP-10/Mob-1 در سلولهای فیبروبلاست انسانی

استفاده می کنند^(۱۵،۱۶). مطالعه دیگری نشان داده است که TNF- α و IFN- γ از مسیر NF- κ B و ISRE بیان IP-10/Mob-1 را در سلولهای کبدی و سلولهای هپاتومای انسانی Huh-7 افزایش می دهند^(۱۹) مطالعات دیگری که توسط همین محققین انجام شده است دخالت شوک حرارتی، اسمولاریته و کمبود اکسیژن را در بیان IP-10/Mob-1 و کموکاینهایی نظیر GRO و SDF- α در هپاتوسیتها و سلولهای هپاتوما H4 نشان داده ایم^(۲۰) همانطور که می دانیم IP-10/Mob-1 دارای عناصر پاسخ دهنده به NF- κ B در پروموتور خود می باشد، بنابراین دلیل عدم بیان IP-10/Mob-1 در حضور MG132 مشخص می شود^(۱۰). شاید این مسئله میزان اهمیت هر مسیر را در انتقال پیام منعکس کند. با این وجود ما در این مطالعه میزان بیان IP-10/Mob-1 را در هپاتوسیت بررسی نمودیم و مطالعات بیشتری نیاز است تا بیان این کموکاین و دیگر کموکاینها را در سایر سیستمهای سلولی جهت مشخص شدن مسیرهای انتقال پیام بررسی نماید. در مطالعه ما SB203580 قادر به سرکوب بیان IP-10/Mob-1 در غلظتهای بالاتر از ۲۰ μ M بود. این میزان غلظت مهار کننده به کار رفته در تحقیق ما بر اساس مطالعات گذشته انتخاب شد به گونه ای که طی یک تحقیق یک میزان مشخص از مهار کننده استفاده شد و از ۱۰ μ M روی کراتینوسیتهای اپیدرمال^(۲۱) تا ۳۰ μ M در سلولهای لوسمی انسانی و سلولهای مزانشیال^(۲۲) استفاده شد. بنابراین، این مطالعات به همراه مطالعه ما نشان می دهد که برای عمل بازدارندگی SB203580 یک درجه ای از حساسیت بازدارندگی وجود دارد. در مورد سایر نتایج به دست آمده در این تحقیق در حضور مهارکننده KN62 در غلظتهای بالاتر تولید IP-10/Mob-1 به وسیله هپاتوسیتها را مهار نمود به گونه ای که در غلظتهای ۱۰ μ M و ۲۰ μ M بیان IP-10/Mob-1 به میزان زیادی کاهش یافت اما در غلظتهای پایین تر چنین اثری مشاهده نشد. همچنین استرپورین در غلظتهای ۵ μ M و ۱۰ μ M باعث یک کاهش قابل ملاحظه در بیان IP-10/Mob-1 شد در حالی که در غلظتهای پایین تر (۵- میکرومول) دارای چنین اثری نبود با بررسی به عمل آمده تا به حال هیچ تحقیقی در مورد حضور این مهارکننده ها گزارش نشده است.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج این تحقیق، به نظر می رسد درک بهتر مسیرهای انتقال پیام در بیماریهای مزمن کبد و همچنین درمان و پیشگیری از بیماریها می تواند کمک کننده باشد. همچنین پیشنهاد می شود مطالعه ای کلی و مروری از کلیه این مطالعات انجام تا میزان اهمیت هر مسیر را ذکر کند. در ضمن تحقیقات بیشتری در آینده نیاز است تا میزان بیان mRNA این کمو کین توسط هپاتوسیتها در حضور بازدارنده های دارویی را اندازه گیری کند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از وزارت بهداشت و درمان جمهوری اسلامی ایران که حمایت مالی این پروژه را به عهده داشته و از پرسنل و دانشجویان آزمایشگاه شماره ۲۰۳ دانشکده علوم زیستی دانشگاه منچستر که در مراحل انجام آزمایشات رهنمودهایی ارائه نموده اند، کمال سپاس و تقدیر را دارند.

References

- 1- Abdi R, Means TK, Luster A. *Chemokines in islet allograft rejection*. Diabetes Metabolism Research Reviews. 2003; 19, 186-190.
- 2- Luster AD, Ravetch JV. *Biochemical characterization of a gamma interferon-inducible cytokine (IP-10)*. J Exp Med. 1987 Oct 1; 166 (4): 1084-97.
- 3- Neville LF, Abdullah F, McDonnell PM, Young PR, Feuerstein GZ, Rainovici R. *Mob-1 expression in IL-2-induced ARDS: regulation by TNF-alpha*. Am J Physiol. 1995 Dec; 269 (6 Pt 1): L884-90.
- 4- Ohmorimi Y, Tebo J, Nedospasov S, Hamilton TA. *Kappa B binding activity in a murine macrophage-like cell line. Sequence-specific differences in kappa B binding and transcriptional activation functions*. J Biol Chem. 1994 Jul 1; 269 (26): 17684-90
- 5- Ohmari Y, Wyner L, Narumi S, Armstrong D, Stoler M, Hamilton TA. *Tumor necrosis factor-alpha induces cell type and tissue-specific expression of chemoattractant cytokines in vivo*. Am J Pathol. 1993 Mar; 142 (3): 861-70.
- 6- Johnson LN, Moliner ED, Brown NR, Song H, Bradford D, Endicott JA, Noble MEM. *Structural studies with inhibitors of the cell cycle regulatory kinase cyclin-dependent protein kinase 2*. Pharmacol Ther. 2002 Feb-Mar; 93 (2-3): 113-24.
- 7- Matthias, P, Wymann, Marketa, Z, Muriel L. *Phosphoinositide 3-kinase signalling-which way to target?* Trends Pharmacol Sci. 2003 Jul; 24 (7): 366-76.
- 8- Hur GM, Ryu YS, Yun HY, Jeon BH, Kim YM, Seok JH, Lee JH. *Epatic ischemia/reperfusion in rats induces iNOS gene transcription by activation of NF-kappaB*. Biochem Biophys Res Commun. 1999; 261 (3): 917-22.
- 9- Joshi-Brave S, Brave SS, Butt W, Klein J, McClain CJ. *Inhibition of proteasome function leads to NF-kappaB-independent IL-8 expression in human hepatocytes*. Hepatology. 2003; 38 (5): 1178-87.
- 10- Blinman TA, Gukovsky I, Mouria M, Zaninovic V, Livingston E, Pandol SJ, Gukovskaya AS. *Activation of pancreatic acinar cells on isolation from tissue: cytokine upregulation via p38 MAP kinase*. Am J Physiol Cell Physiol. 2000 Dec; 279 (6): C1993-2003.
- 11- Lee JC, Kassis S, Kumar S, Badger A, Adams JL. *P38 mitogen-activated protein kinase inhibitors--mechanisms and therapeutic potentials*. Pharmacol Ther. 1999 May-Jun; 82 (2-3): 389-97.
- 12- Davies SP, Reddy H, Caivano M, Cohen P.

- Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors.* Biochem J. 2000 Oct 1; 351 (Pt 1): 95-105.
- 13- Varley CL, Armitage S, Hassanshahiraviz G, Dickson AJ. *Regulation of the C-X-C chemokine, mob-1, gene expression in primary rat hepatocytes.* Cytokine. 2003; 23: 640-75.
- 14- Cho JY, Katz DR, Chain BM. *Staurosporine induces rapid homotypic intercellular adhesion of U937 cells via multiple kinase activation.* Br J Pharmacol. 2003 Sep; 140 (2): 269-76. Epub 2003 Aug 26.
- 15- Majumder S, Zhou LZ, Chaturvedi P, Babcock G, Aras S, Ransohoff RM. *Regulation of human IP-10 gene expression in astrocytoma cells by inflammatory cytokines.* J Neurosci Res. 1998 Oct 15; 54 (2): 169-80.
- 16- Romagnani P, Lazzeri E, Lasagni L, Mavilia C, Beltrame C, Francalanci M, Rotondi M, Annuziaton F, Maurenzig L, Cosmi L, Galli G, Salvadiri M, Maggi E, Serio M. *IP-10 and Mig production by glomerular cells in human proliferative glomerulonephritis and regulation by nitric oxide.* J Am Soc Nephrol. 2002 Jan; 13 (1): 53-64.
- 17- Helbig KJ, Ruzskiewicz A, Semendric L, Harley HAJ, McColl SR, Beard MR. *Expression of the CXCR3 ligand I-TAC by hepatocytes in chronic hepatitis C and its correlation with hepatic inflammation.* Hepatology. 2004 May; 39 (5): 1220-9.
- 18- Koniaris LG, Koniaris TZ, Hsiao EC, Chavin K, Stizmann J, Farber JM. *Cytokine-responsive gene-2/IFN-inducible protein-10 expression in multiple models of liver and bile duct injury suggests a role in tissue regeneration.* Journal of Immunology. 2001; 167: 399-406.
- 19- Hassanshahi GH, Patel SS, Jafarzadeh AA. *Expression of CXC chemokine IP-10/Mob-1 by primary hepatocytes following heat shock.* Saudi Med J. 2007 Apr; 28(4):514-8.
- 20- Dillman III JF, McGary KL, Schlager JJ. *An inhibitor of p38 MAP kinase downregulates cytokine release induced by sulfur mustard exposure in human epidermal keratinocytes.* Toxicol In Vitro. 2004 Oct; 18 (5): 593-9.
- 21- Ishi Y, Sakai S, Honma Y. *Pyridinyl imidazole inhibitor SB203580 activates p44/42 mitogen-activated protein kinase and induces the differentiation of human myeloid leukemia cells.* Leuk Res. 2001 Sep; 25 (9): 813-20.