مقاله اصلی

نفس، سال ۷، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹، صفحات ۱۸ تا ۲۷

اثر نیکوتین بر بیان گیرنده CXCR4 ومولکول‌های چسبان CD49D، CD11a، CD18 و CD62L درسطح سلول‌های CD34+ خون بند ناف انسان

لعیا تکبیری اسگویی[1*]، کاظم پریور[2]، اسماعیل مرتاض[3]، مرضیه ابراهیمی[4]

۱) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران
۲) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران
۳) دانشیارگروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی
۴) پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه سلول‌های بنیادی وزیست پزشکی ترمیمی، تهران، ایران

چکیده:

استعمال سیگار می‌تواند اثرات مضر گسترده‌ای روی سلامت افراد داشته باشد و نیکوتین بعنوان یکی از اصلی‌ترین ترکیبات موجود در دود سیگار درخط مقدم پژوهش‌های انجام گرفته قراردارد. هدف تحقیق حاضر روشنگری در زمینه اثر نیکوتین بربیان گیرنده کموکاینی CXCR4 و مولکول‌های چسبان در سطح سلول‌های بنیادی – پیشساز خونی می‌باشد. برای این منظور پس از جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای خون بند ناف این سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت با سه دوز۱۰ نانومول، ۱میکرومول و۱۰۰ میکرومول نیکوتین تیمار شدند. سپس با تکنیک فلوسیتومتری میزان بیان مارکرهای CXCR4، CD49d، CD11a، CD18و CD62L در سطح جمعیت سلولی CD34+ که معرف سلول‌های بنیادی – پیشساز خونی هستند مورد اندازه‌گیری قرارگرفت. طبق نتایج بدست آمده نیکوتین باعث کاهش میزان بیان گیرنده کموتاکتیک CXCR4 گشت، درحالیکه میزان بیان دیگر مارکرها به غیر از CD62L افزایش نشان داد. نتیجه‌گیری اینکه در محیط برون‌تنی نیکوتین می‌تواند باعث تغییر الگوی بیان گیرنده کموکاینی CXCR4 و مولکول‌های چسبان CD49D، CD18 و CD11a گردد.

واژگان کلیدی: نیکوتین، خون بند ناف، سلول‌های بنیادی – پیشساز خونی، CXCR4، مولکول‌های چسبان

* **نویسنده مسئول:**

دکتر لعیا تکبیری اسگویی، استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران، پست الکترونیک: l_takbiri@iau-tnb.ac.ir

مقدمه:

سلول‌های بنیادی – پیش‌ساز خونی (HSPCs[1]) که تحت عنوان سلول‌های CD34+ نیزشناخته شده‌اند، سلول‌های چند توانی هستند که وظیفه تولید تمامی سلول‌های خونی را برعهده دارند. خونسازی درجنین ابتدا درکیسه زرده شروع شده وپس ازمدتی کبد درگیر خونسازی می‌گردد. سرانجام درست قبل ازتولد سلول‌های بنیادی – پیش‌ساز خونی به مغز استخوان مهاجرت نموده ودر مکان‌های ویژه[2] دراین اندام لانه گزینی می‌نمایند. مغز استخوان اندامی است که تا پایان عمر عهده‌دار خونسازی می‌باشد [۱]. لانه‌گزینی سلول‌های بنیادی– پیشساز خونی در مغز استخوان آخرین ایستگاه برای این سلول‌ها می‌باشد. فقط بخشی ازآنها فنوتیپ[3] مهاجرکسب نموده و تا انتهای حیات بطور مداوم مابین مغز استخوان و جریان خون درحال گردش خواهند بود [۲] .

تغییرمکان خونسازی چه در دوره جنینی وچه پس از آن توسط مکانیسم‌های دقیق و پیچده‌ای تنظیم می‌گردد که هنوز بطور کامل شناسایی نشده‌اند. آنچه که مسلم است اینکه فاکتورهای کموتاکتیک ومولکول‌های چسبان در مهاجرت، لانه گزینی، تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی – پیش‌سازخونی نقش محوری بر عهده دارند [۳].

پژوهشگران متعددی میزان بیان مولکول‌های چسبان مختلف را در سطح سلول‌های بنیادی – پیش‌ساز خونی جنین و مغز استخوان بالغین مورد مطالعه قرار داده‌اند [۱-۳]. یکی از اولین پژوهش‌های انجام گرفته در این زمینه مربوط به Gunji و همکاران می‌باشد که بیان مولکول‌های چسبان CD44، (CD11a/CD18) LFA-1 و CD11c را در سطح سلول‌های CD34+ مغز استخوان انسان گزارش نمودند [۳]. درسال ۱۹۹۸ Timeus و همکاران میزان بیان طیف گسترده‌ای از مولکول‌های چسبان را در سطح سلول‌های CD34+ خون بند ناف نوزاد و مغز استخوان بالغین مورد اندازه‌گیری قرارداده و ضمن تائید بیان بالای مارکرهای مورد نظر اظهار داشتند سطح بیان مولکول L-selectin، H-CAM و LFA1 در سطح سلول‌های مغز استخوان بالاتر از خون بند ناف است [۴]. درحالیکه Möhle و همکاران میزان بیان سه مولکول چسبان محوری CD49d، CD11a وCD62L را در سطح سلول‌های بنیادی –پیش‌ساز خونی خون بند ناف نوزادان مورد اندازه‌گیری قرار داده و ادعا نمودند سطح بیان مارکرهای فوق دراین سلول‌ها بالاتر از سلول‌های مشابه موجود در مغز استخوان می است [۵].

از نکته نظر بالینی مطالعه روی مکانیسم‌های عملکردی فاکتورهای کموتاکتیک ومولکول‌های چسبان در مهاجرت و فعالیت سلول‌های بنیادی – پیش‌سازخونی ازدوجنبه حائزاهمیت است، اول اینکه مهاجرت، لانه گزینی و خونسازی کارآمد سلول‌های فوق موفقیت پیوند خون بندناف و مغز استخوان را تضمین می‌نماید. از طرف دیگر چنین شناختی می‌تواند در بسیج[4] و جمع‌آوری[5] مناسب سلول‌های مورد نظر از دهنده پیوند مفید واقع گردد [۶].

اطلاعات پراکنده‌ای وجود دارد مبنی بر اینکه مواجهه با نیکوتین چه در دوره جنینی و چه پس از تولد می‌تواند روی عملکرد سلول‌های بنیادی –پیش‌سازخونی از جمله مهاجرت، لانه گزینی و خونسازی آنها تاثیرگذار باشد [۷-۸]. نیکوتین یکی از اصلی‌ترین ترکیبات مضر موجود در دود سیگار می‌باشد و میزان آن در پلاسمای افراد سیگاری به نا به گزارش راسل و همکاران ۴۴۴-۲۵ نانومول[6] در لیتر می‌باشد [۹]. هرچند که در منابع دیگر این مقدار حتی بیشتر و تا ۱میکرومول[7] درلیتر گزارش شده است[۱۰].

لذا جهت روشنگری بیشتر در مورد اثر نیکوتین روی الگوی بیان مولکول‌های فوق درسطح سلول‌های بنیادی-پیش‌ساز خونی مطالعه حاضر برای اولین‌بار اثر دوزهای مختلف نیکوتین را بر میزان بیان گیرنده کموکاینی CD184(CXCR4) و مولکول‌های چسبان CD49d، CD11a، CD18 و CD62L در سطح جمعیت سلولی CD34+ موجود در نمونه سلول‌های تک هسته‌ای خون بندناف[8] مورد اندازه‌گیری قرار داد.

[1] Hematopoietic Stem and Progenitor Cells
2 niche
3 phenotype

4 mobilization
5 collection
[6] Nanomolar(nM)
[7] Micromolar(µM)
[8] Umbilical Cord Blood- Mononuclear Cells(UCB-MNC)

مواد و روش‌ها:

مواد: جهت انجام این پژوهش نیکوتین از کمپانی سیگما آلدریچ[1] با کد N3876، LPS [2] ازکمپانی سیگما آلدریچ با کد L2630 وآنتی‌بادی‌های کونژوگه شده با رنگ‌های فلورسانس اختصاصی ازکمپانی eBioscienc[3] تهیه گردید.

آنتی‌بادی‌های کونژوگه جهت فلوسیتومتری: آنتی‌بادی موشی ضد CD34 انسانی کونژوگه شده با فیکواریترین (PE)، آنتی‌بادی موشی ضد CD34 انسانی کونژوگه شده با PE-Cyanine7، آنتی‌بادی موشی ضد CD49d انسانی کونژوگه شده با فیکواریترین (PE)، آنتی‌بادی موشی ضد CD11a انسانی کونژوگه شده با فلوروسئین ایزوتیوسیانات (FITC)، آنتی‌بادی موشی ضد CD18 انسانی کونژوگه شده با فلوروسئین ایزوتیوسیانات (FITC)، آنتی‌بادی موشی ضد CXCR4 انسانی کونژوگه شده با E-CY7. جهت اطمینان از اختصاصی بودن واکنش از آنتی‌بادی‌های همسان موشی که دارای همان رنگ وایزوتایپ بودند بعنوان ایزوتایپ شاهد استفاده گردید.

روش‌ها: این مطالعه از نوع تجربی – مداخله‌ای[4] بود.

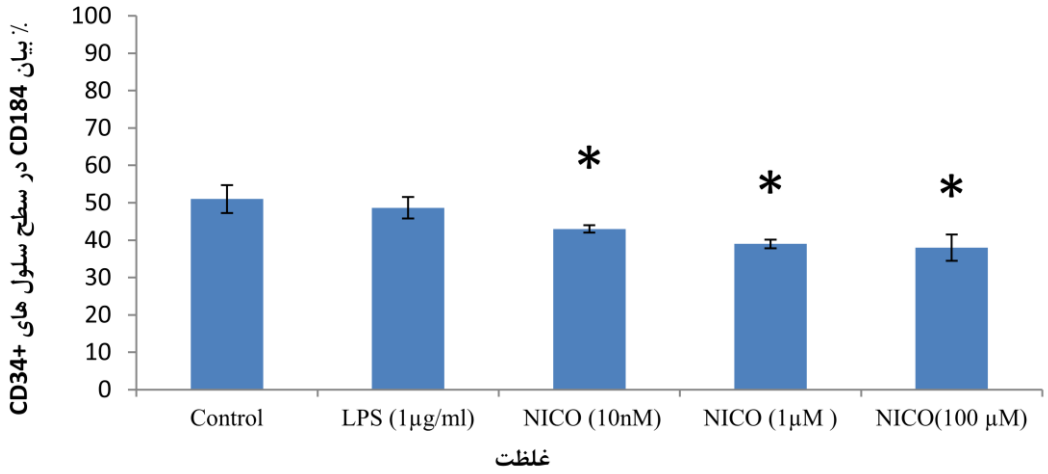
تهیه نمونه: دریک محدوده زمانی ۶ ماهه ۸ نمونه خون بند ناف استریل از ۸ مادر سالم بستری دربیمارستان‌های طرف قرارداد با پژوهشکده رویان تهیه گردید. قبل از نمونه‌گیری از مادران شرکت کننده درپژوهش رضایت نامه کتبی گرفته شد. تمامی مادران غیر سیگاری و غیر آلرژیک بودند. نمونه‌ها دراسرع وقت به آزمایشگاه منتقل گردیده وتست‌های مورد نظر روی آنها انجام گرفت. از بین نتایج بدست آمده سه سری از آنها برای آنالیز نهایی انتخاب شد.

جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای موجود درنمونه: در مرحله اول نمونه خون به لوله‌های فالکون[5] ۱۵ میلی‌لیتری منتقل شد و جهت سهولت در جداسازی به نسبت ۱به ۵ به آن هیدروکسی اتیل نشاسته (HEAS[6]) اضافه گردید. سپس لوله‌ها به مدت ۴۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه شدند. طی این مدت گلبول‌های قرمز در ته لوله رسوب نمودند. در مرحله بعدی مایع رویی که حاوی سلول‌های تک هسته‌ای بود به لوله دیگری منتقل شده و دردورg[7] ۳۰۰ مورد سانتریفوژ قرارگرفت. درمرحله سوم پس از افزودن ۴ میلی لیترPBS[8] به هر لوله رسوب سلولی دوباره به حالت معلق درآمده و با دقت تمام به لوله‌های حاوی ۲میلی‌لیتر فایکول[9] منتقل گردید. نمونه مورد نظربه مدت ۲۰ دقیقه دردور g ۸۰۰ مورد سانتریفوژ قرار گرفت. در این مرحله سه لایه در لوله ایجاد گردید و لایه وسط (بافی کوت[10]) که حاوی سلول‌های تک هسته‌ای خون بود به لوله دیگری منتقل شده و جهت اطمینان از خارج شدن کامل فایکول از محیط ۲ نوبت دیگر سلول‌ها با استفاده از بافر PBS مورد شستشو قرار گرفتند. سرانجام در مرحله نهایی پس از رنگ‌آمیزی سلول‌ها با تریپان بلو[11] و اطمینان از زنده بودن بیش از ۹۵ درصد سلول‌ها با استفاده از محیط کشت RPMI[12] واجد ۱۰ درصد FBS[13] و۱درصد آنتی‌بیوتیک (پنسیلین و استرپتومایسین) سوسپانسیونی با غلظت 10^6 سلول درمیلی لیتر تهیه گردید.

مجاورسازی با نیکوتین: سلول‌های تک هسته ای جداسازی شده با ۳غلظت ۱۰نانومول، ۱ میکرومول و ۱۰۰ میکرومول ازنیکوتین مجاور گشتند. جهت کنترل مثبت از LPS با غلظت ۱میکروگرم درمیلی‌لیتر و جهت کنترل منفی از نمونه سلولی استفاده شد که با هیچ ماده‌ای مجاور نشده بود. پلیت مورد نظربه مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ °C انکوبه گردید.

رنگ‌آمیزی سلولی جهت بررسی فلوسیتومتریک: پس از اتمام تیمار ۲۴ ساعته با نیکوتین سلول‌های بدست آمده به تعداد مساوی در لوله‌های تست و ایزوتایپ[14] تقسیم شده و با آنتی‌بادی‌های کونژوگه ضد مارکرهای CD34، CXCR4 ، CD49d ، CD11a،

[1] Sigma aldrich company
[2] Lipopolysaccharide
[3] eBioscience company
[4] Experimental-Interventional
[5] Falcon
[6] hydroxyethyl starch
[7] g or relative centrifugal force
[8] Phosphate-buffered saline
[9] Ficoll-Paque
[10] buffy coat
[11] Trypan blue
[12] Roswell Park Memorial Institute Medium
[13] Fetal bovine serum
[14] Isotype



نمودار ۱ - میزان بیان CD184 (CXCR4) در سطح جمعیت سلولی UCB-MNC,CD34+

CD18، CD62L و همچنین آنتی‌بادی‌های ایزوتایپ مورد رنگ‌آمیزی قرار گرفتند. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسون در تاریکی و دمای یخچال خوانش با دستگاه FACS[1] انجام گرفت.

آنالیز آماری: داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۲۲ (آزمون ANOVA یک طرفه و مقایسه میانگین Duncan[2]) مورد آنالیز قرار گرفت.

یافته ها:

اثر نیکوتین بر میزان بیان گیرنده CXCR4: آنالیز فلوسیتومتریک نشان داد که متعاقب تیمار با نیکوتین میزان بیان گیرنده CXCR4 در سطح جمعیت سلولی CD34+ موجود در نمونه سلول‌های تک هسته‌ای خون بند ناف بطور وابسته به دوز کاهش می‌یابد. طوریکه میزان بیان گیرنده مورد نظراز ۵۱٪ در نمونه کنترل به ۳۸٪ در نمونه تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکرومول نیکوتین رسید. میزان بیان در غلظت‌های ۱۰نانومول و ۱ میکرومول نیکوتین به ترتیب ۴۳ درصد و ۳۹ درصد بود. طبق آنالیز آماری انجام گرفته کاهش مشاهده شده درهر سه دوز نسبت به نمونه کنترل معنی‌دار بود ($P\leq ۰/۰۵$) (نمودار ۱).

اثرنیکوتین برمیزان بیان مولکول‌های چسبان CD49d، CD11a، CD18 و CD62L:

CD49d: میزان بیان CD49d در سطح جمعیت سلولی CD34+ موجود در نمونه در بالاترین غلظت نیکوتین (۱۰۰ میکرومول) نسبت به نمونه کنترل با $P\leq ۰/۰۵$ افزایش معنی‌دار نشان داد (نمودار۲).

CD11a: میزان بیان CD11a در سطح جمعیت سلولی CD34+ موجود در نمونه در دو غلظت ۱ میکرومول و ۱۰۰ میکرومول نیکوتین با $P\leq ۰/۰۵$ نسبت به نمونه کنترل افزایش معنی‌دار نشان داد (نمودار۳).

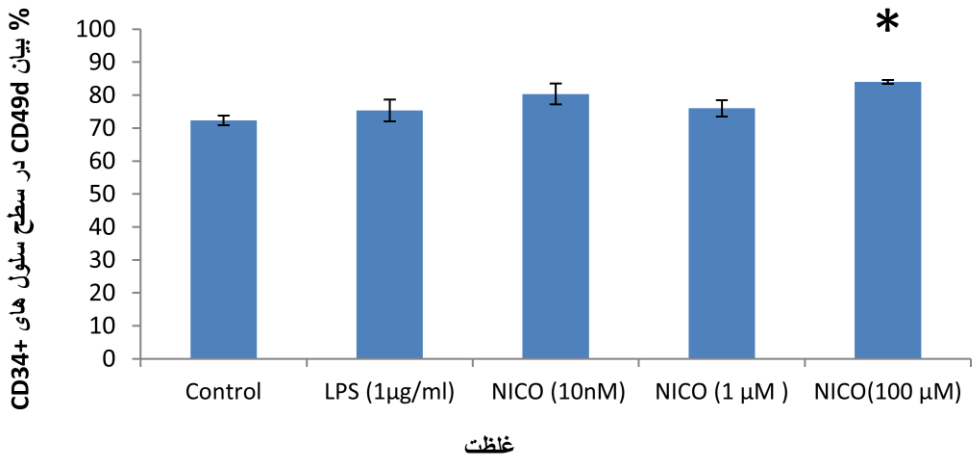
CD18: میزان بیان CD18 در سطح جمعیت سلولی CD34+ موجود در نمونه نیز همانند CD49d در بالاترین غلظت نیکوتین (۱۰۰ میکرومول) نسبت به نمونه کنترل با $P\leq ۰/۰۵$ افزایش معنی‌دار نشان داد (نمودار۴).

CD62L: میزان بیان CD62L در سطح جمعیت سلولی CD34+ موجود در نمونه در هیچکدام از غلظت‌های نیکوتین نسبت به نمونه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد (نمودار۵).

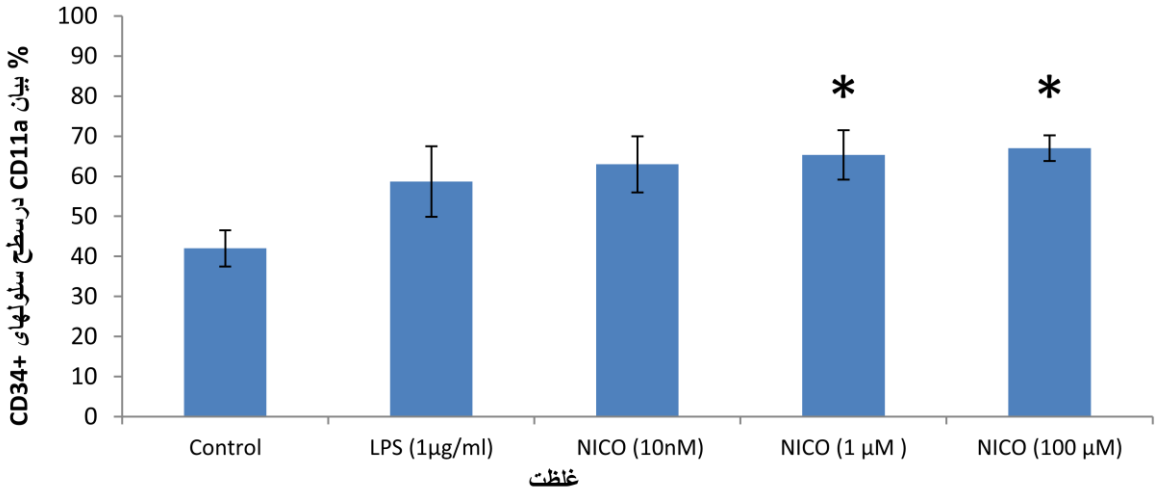
بحث:

همانطورکه ذکر شد در مطالعه حاضر ما شاهد کاهش وابسته به دوز میزان بیان گیرنده کموکاینی CXCR4 و افزایش وابسته به دوز بیان مولکول‌های چسبان

[1] Fluorescence-activated cell sorting
[2] Duncn Test



نمودار ۲ - میزان بیان CD49d در سطح جمعیت سلولی UCB-MNC,CD34+

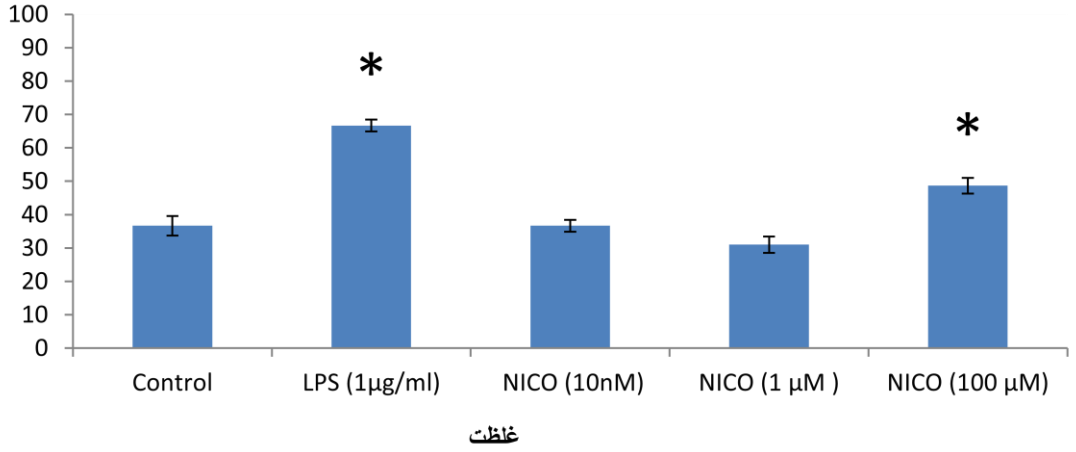


نمودار ۳ - میزان بیان CD11a در سطح جمعیت سلولی UCB-MNC,CD34+

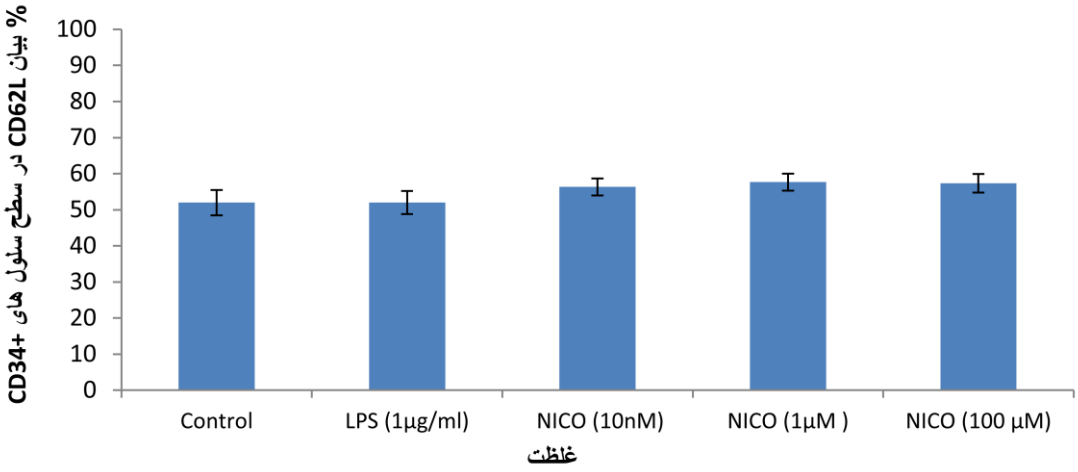
CD49d، CD11a، CD18 در سطح سلول‌های بنیادی – پیش‌ساز خونی بودیم.

اگرچه در تنظیم مهاجرت سلول‌های بنیادی– پیش‌ساز خونی عوامل متعددی دخیل هستند ولی به جرات می‌توان اظهار نمود جفت فاکتور CXCL12[1] و CXCR4 اصلی‌ترین نقش را در لانه‌گزینی سلول‌های مورد نظر در مغز استخوان بعهده دارند. CXCL12 یک کموکاین می‌باشد که توسط سلول‌های استرومایی مغز استخوان ترشح می‌گردد. گیرنده این کموکاین CXCR4 یا CD184 است که به وفور در سطح سلول‌های بنیادی – پیشساز خونی بیان می‌گردد. به این ترتیب سلول‌های بنیادی – پیشساز خونی در جهت گرادیان غلظتی CXCL12 به طرف مغز استخوان جذب شده و در این اندام لانه گزینی می‌نمایند. جنین‌هاییکه بطور ژنتیکی در بیان این فاکتور نقص دارند معمولا زنده نمی‌مانند [۱۱،۲]. به دلیل اهمیت این دو فاکتور یکی از اهداف اولیه ما تعیین اثر نیکوتین روی میزان بیان گیرنده CXCR4 در سطح سلول‌های CD34+ بود.

[1] Stromal-derived factor1 - SDF-1



نمودار۴ - میزان بیان CD18 در سطح جمعیت سلولی UCB-MNC,CD34+



نمودار ۵ - میزان بیان CD62L در سطح جمعیت سلولی UCB-MNC,CD34+

اگرچه به دلیل خلا اطلاعاتی موجود در رابطه با پژوهش‌های انسانی مشابه امکان مقایسه نتایج وجود ندارد، ولی مطالعات محدود انجام گرفته روی مدل‌های حیوانی نتایج جالب توجه‌ای را ارائه نموده‌اند. بعنوان نمونه Serobyen و همکاران در سال ۲۰۰۵ جهت مطالعه اثرنیکوتین روی سیستم خونساز در یک مطالعه درون تنی موش‌های باردار BALB/c را در معرض نیکوتین قرار دادند. به این ترتیب که موش‌های مورد آزمایش از روز پنجم بارداری روزانه یک نوبت تحت تزریق وریدی محلول ۰/۰۱ میکرومول نیکوتین قرار گرفتند. سپس اثرات چنین تیماری روی جنین و نوزادان به دنیا آمده مورد بررسی قرار گرفت. تست سنجش کلنی درجنین‌های بدست آمده از مادرهای باردار فوق کاهش تعداد پیشسازهای خونی موجود در مغز استخوان را نشان داد، درحالیکه تعداد سلول‌های مورد بحث در کبد جنین تفاوت چندانی با نمونه‌های کنترل نداشت. از طرف دیگر در نوزادان متولد شده از مادران فوق کاهش شدید پیشسازهای خونی موجود در مغز استخوان وهمچنین پاسخ‌های ایمنی وابسته به لنفوسیت‌های T (پاسخ ازدیاد حساسیت تاخیری) و B (شمار سلول‌های تشکیل دهنده

پلاک) مشهود بود [۱۲]. با استناد به یافته‌های مورد اشاره می‌توان نتیجه‌گیری نمود که نیکوتین باعث اختلال در مهاجرت سلول‌های بنیادی – پیشساز خونی موجود در کبد جنین می‌گردد. بنابراین کلونیزاسیون و لانه‌گزینی سلول‌های خونساز در مغز استخوان بطور مناسب انجام نمی‌پذیرد و همین موضوع برخی نقص‌های ایمونولوژیک مشاهده شده در این نوزادان را توجیه می‌نماید. قابل ذکر آنکه در مورد علت اختلالات مشاهده شده خود این محقق در مطالعه دیگری [۱۳] کاهش بیان گیرنده CXCR4 را در جنین‌ها و نوزادان موشی تیمار شده با نیکوتین گزارش می‌نماید. ما نیز همخوان با مطالعات اشاره شده به این نتیجه رسیدیم که نیکوتین قادر است با کاهش بیان این گیرنده حیاتی روند مهاجرت سلول‌های بنیادی – پیش‌ساز خونی را مختل نماید.

مطالعه جالب توجه دیگر در مورد اثر نیکوتین بر روند خونسازی مربوط به Pandit و همکاران می‌باشد. این تیم درمطالعه‌ای روی موش‌های BALB/c، متعاقب تیمار با نیکوتین کاهش قابل توجه در شکل‌گیری و تکثیر کلنی‌های خونساز مغز استخوان و افزایش خونسازی در طحال را گزارش نمودند. این محققین همچنین کاهش بیان مولکول چسبان β2 اینتگرین ومهارقابل توجه روند چسبیدن وغلتیدن سلول‌های بنیادی – پیشساز خونی از سد آندوتلیومی مغز استخوان را شاهد بودند [۷]. با توجه به اینکه مطالعات انجام گرفته روی رده‌های سلولی سرطانی و غیرسرطانی سیستم تنفسی و همچنین رده‌های سلولی دیگر اثرات میتوژنیک نیکوتین را تایید نموده‌اند [۱۵،۱۴] و ما نیز در بخشی از پژوهش خود شاهد اثر تحریکی نیکوتین بر تکثیر سلول‌های بنیادی –پیشسازخونی بودیم [۱۶]، حال این سئوال مطرح می‌گردد: دلیل کاهش خونسازی در مغز استخوان طی مطالعه Pandit چه می‌تواند باشد؟ آیا علت اختلال در روند مهاجرت و لانه‌گزینی در مغز استخوان ممکن است به دلیل کاهش بیان گیرنده CXCR4 و عدم عملکرد مناسب محور CXCL12-CXCR4 باشد؟ آیا این احتمال وجود دارد که سلول‌های بنیادی – پیش‌ساز خونی از آنجاییکه نتوانسته‌اند بطور طبیعی در مغز استخوان لانه‌گزینی و خونسازی نمایند طحال را بعنوان اندام جایگزین انتخاب نموده‌اند؟ بدیهی است که پاسخ به چنین سئوالاتی پژوهش‌های بیشتر و گسترده‌تری را در زمینه مورد نظر می‌طلبد.

در مورد میزان بیان مولکول‌های چسبان CD49d، CD11a، CD18 و CD62L در سطح سلول‌های بنیادی – پیش‌ساز خونی ما در دوز ۰/۰۱µM که نزدیک‌ترین دوز به سطح فیزیولوژیک نیکوتین در پلاسمای افراد سیگاری می‌باشد هیچگونه تغییری مشاهده نکردیم، ولی در دوز ۱ µM شاهد افزایش بیان معنی‌دار CD11a و در دوز ۱۰۰ µM شاهد افزایش بیان سه مولکول چسبان CD49d، CD11a و CD18 بودیم. هرچند در مورد نقش نیکوتین در القای بیان مولکول‌های چسبان در سطح سلول‌های بنیادی – پیش‌ساز خونی اطلاعات چندانی وجود ندارد، ولی مطالعات انجام گرفته روی سلول‌های دیگر اثر القایی نیکوتین را در بیان مولکول‌های چسبان تائید نموده‌اند. از جمله Albaugh و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش نمودند تیمار سه ساعته سلول‌های HUVEC[1] با دوز ۰/۰۱µM نیکوتین باعث القای بیان مولکول‌های چسبان ICAM-1[2] وVCAM[3] در سطح سلول‌های مورد بحث می‌گردد [۱۷]. در مطالعه‌ای مشابه wang و همکاران نیز متعاقب تیمار با نیکوتین بیان مارکرهای VCAM و E-selectin را در سطح سلول‌های فوق (HUVEC) گزارش کردند [۱۸-۱۹]. درحالیکه در مطالعه Rynder و همکاران تیمار با نیکوتین هیچگونه اثری روی بیان CD18 و CD62L در سطح نوتروفیل‌های انسانی نداشت [۲۰]. همانطور که در فوق اشاره شد ما نیز در مطالعه خویش شاهد القای بیان برخی مولکول‌های چسبان توسط نیکوتین بودیم. البته بحث در مورد علل و اثرات چنین افزایش بیانی خارج از موضوع مقاله حاضر است ولی جا دارد اشاره گردد در سال‌های اخیر یافته‌هایی مبنی بر اثر مثبت نیکوتین طی روند بسیج سلولی گزارش گردیده است. Haile و همکاران در سال ۲۰۱۱ هنگامیکه سعی داشتند با استفاده از فاکتور تحریک کننده کلنی گرانولوسیتی[4] بسیج سلول‌های

[1] Human umbilical vein endothelial cells
[2] intracellular adhesion molecule-1
[3] vascular cell adhesion molecule-1
[4] G-CSF

بنیادی خونساز را در بیماران مبتلا به میلوما تحریک نمایند بطور تصادفی متوجه گشتند در بیماران سیگاری و همچنین آنهایی که از بسته‌های نیکوتینی[1] استفاده نموده‌اند میزان سلول‌های بنیادی بسیج گشته به جریان خون چندین برابر بیشتر از بقیه بیماران است[۸]. اگرچه درحال حاضر در مورد مکانیسم چنین اثری اطلاعات کافی موجود نمی‌باشد، ولی امید می‌رود این اثر جالب توجه نیکوتین وارتباط احتمالی آن با میزان بیان مولکول‌های چسبان مختلف در سطح سلول‌های بنیادی – پیشساز خونی موضوع پژوهش‌های آتی باشد.

نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد که نیکوتین بعنوان اصلی‌ترین ماده موجود دردود سیگار قادر است بطور وابسته به دوز تکثیر سلول‌های بنیادی – پیش‌ساز موجود در خون بند ناف انسان را تحریک نماید. علاوه بر این ما مشاهده نمودیم نیکوتین باعث کاهش بیان گیرنده کموکاینی CXCR4 در سطح سلول‌های فوق می‌گردد، درحالیکه میزان بیان مولکول‌های چسبان CD49d، CD11a و CD18 را القا می‌نماید. کل این یافته‌ها نشان می‌دهد که استعمال سیگار و یا بسته‌های نیکوتینی ممکن است مهاجرت، تکثیر و بسیج سلول‌های بنیادی – پیش‌ساز را در گیرنده‌ها و همچنین دهنده‌های پیوند سلول‌های بنیادی خونی تحت‌الشعاع قرار دهد.

منابع:

1) Surbek D V, Steinmann C, Bürk M, et al. Developmental changes in adhesion molecule expressions in umbilical cord blood CD34+ hematopoietic progenitor and stem cells. The American Journal of Obstetrics and Gynecology.2000; 183:1152-1157.
2) Mazo I.B, Massberg S, von. A. et al. Hematopoietic stem and progenitor cell trafficking .Trends in Immunology. 2011; 32(10):493–503.
3) Gunji Y, Nakamura M, Hagiwara T, et al. Expression and Function of Adhesion Molecules on Human Hematopoietic Stem Cells: CD34+ LFA-1- Cells Are More Primitive Than CD34+ LFA-l+ Cells. Blood .1992; 80 (2): 429-436.
4) Timeus F, Crescenzio N, Basso G,et al. Cell Adhesion Molecule Expression in Cord Blood CD34+ Cells. Stem Cells. 1998; 16:120-126.
5) Möhle R, Haas R, Hunstein W. Expression of adhesion molecules and c-kit on CD34+ hematopoietic progenitor cells: comparison of cytokine-mobilized blood stem cells with normal bone marrow and peripheral blood. Journal of Hematotherapy. 1993; 2(4):483-489.
6) Alvarez P, Carrillo E, Vélez C, et al. Regulatory Systems in Bone Marrow for Hematopoietic Stem/Progenitor Cells Mobilization and Homing. BioMed Research International. 2013; Article ID 312656:12 pages.
7) Pandit TS, Sikora L, Muralidhar G, et al. Sustained exposure to nicotine leads to extramedullary hematopoiesis in the spleen . Stem Cells. 2006; 24(11):2373-2381.
8) Haile DJ, Utz K, Toro J, et al. Nicotine Use During Mobilization Is Associated with More Efficient Stem Cell Collection. Blood. 2011; 118:1934.
9) Russell MA, Jarvis M, Iyer R, et al.C.1980. Relation of nicotine yield of cigarettes to blood nicotine concentrations in smokers. British Medical Journal, 1980. 280(6219):972-976.
10) Hardman JG, Limbard LE, editors Goodman and Gillmans Pharmocologic Basis of Therapeutics. 9th edition. Philadelphia: McGraw Hill, 1996. 191-193.
11) Suárez-Álvarez B, López-Vázquez A, López-Larrea C. Mobilization and homing of hematopoietic stem cells. 2012; Advances in Experimental Medicine and Biology. 741:152-170.
12) Serobyan N, Orlovskaya I, Kozlov V, et al.2005. Exposure to Nicotine during Gestation Interferes with the Colonization of Fetal Bone Marrow by Hematopoietic Stem /Progenitor Cells. Stem Cells and Development. 2012; 14 (1):81–91.
13) Serobyan N, Jagannathan S, Orlovskaya I, et al.The cholinergic system is involved in regulation of the development of the hematopoietic system. Life Science. 2007; 80(24-25):2352-2360.
14) Dasgupta P, Rastogi S, Pillai S, et al. Nicotine induces cell proliferation by beta-arrestin-mediated activation of Src and Rb-Raf-1 pathways. Journal of Clinical Investigation 2006; 116(8):2208-2217.
15) Hong W, Peng G, Hao B,et al. Nicotine-Induced Airway Smooth Muscle Cell Proliferation Involves TRPC6-dependent Calcium Infux via α7 nAChR. Cellular Physiology and Biochemistry. 2017; 43:986-1002.

[1] nicotine patch

16) Takbiri L, Parivar K, Mortaz E, et al. Effects of Nicotine on Human Hematopoietic System. Nafas, 2017; 4(3): 13-21.
17) Albaugh G, Bellavance E, Strande L, et al. Nicotine Induces Mononuclear Leukocyte Adhesion and Expression of Adhesion Molecules, VCAM and ICAM, in Endothelial Cells in Vitro .Annals of Vascular Surgery 2004; 18: 302-307.
18) Wang Y, Wang L, Ai X, et al. Nicotine could augment adhesion molecule expression in human endothelial cells through macrophages secreting TNF-alpha, IL-1beta. International Immuno pharmacology. 2004. 15; 4(13):1675-1686.
19) Wang Y, Wang Z, Zhou Y, et al. Nicotine stimulates adhesion molecular expression via calcium influx and mitogen-activated protein kinases in human endothelial cells. International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 2006; 38(2):170-182.
20) Ryder MI, Fujitaki R, Lebus S, et al. Alterations of neutrophil L-selectin and CD18 expression by tobacco smoke: implications for periodontal diseases. Journal of Periodontal Research 1998; 33(6):359-568.

Nafas, Vol. 7, No. 3, Autumn 2020, Pages: 18-27

Original Article

Effects of Nicotine on Expression of CXCR4, CD49d, CD11a, CD18, CD62L Markers on Human Cord Blood CD34+ Cells

Laya takbiri Osgoei[1*], Kazem Parivar[2], Esmaeil Mortaz[3], Marzieh Ebrahimi[4]

1) Department of Microbiology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2) Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3) Department of Immunology, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4) Department of Stem Cells and Developmental Biology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran

Abstract:
Smoking can have many adverse effects on human health and nicotine as a main gradient in cigarette smoke is the best topic of related research. The goal of this study was exploring the effects of nicotine on expression of CXCR4 as a chemokine receptor and adhesion molecules on hematopoietic stem/progenitor cells. For this purpose after isolation of mononuclear cells from umbilical cord blood (UCB) they were cultured for 24 hours in three doses of 10nM, 1µM and 100µM nicotine. Then, the expression of CXCR4, CD49d, CD11a, CD18 and CD62L on HSPCs (CD34+ cells) was determined by flow cytometry. Nicotine decreased cellular expression of CXCR4. But the expression of other factors unless CD62L were increased. It can be Concluded in in vitro condition nicotine alters expression pattern of CXCR4 and CD11a, CD18, CD49d.

Keywords: nicotine, umbilical cord blood, HSPCs, CXCR4, adhesion molecules

[*] **Corresponding Author:**
Laya takbiri Osgoei. Department of Microbiology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Email: l_takbiri@iau-tnb.ac.ir