ترجمه فا

TarjomeFa.Com

ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

# مهار کننده ژنستینه جریان سریع Na+ در سلولهای لیومیوسارکوم رحم، مستقل از مهار تیروزین کیناز است.


## چکیده

تنظیم مقادیر کانال های سریع Na + توسط تیروزین کیناز در یک سلول عضله ی رحم انسانی با استفاده از گیره ولتاژ کل سلولی (در پتانسیل نگهدارنده - 90 mV)مورد بررسی قرار گرفت.استفاده از ژنستین، مهار کننده تیروزین کیناز، جریان سریع Na + را بسته به دوز (IN,f))کاهش می دهد. مهار حداکثری ،INane ، نود و هشت در صد بود. تمرکز مهار نیمه حداکثری، (ICs0)، برابر با xM/9 بود. اثر ژنستین به سرعت قابل برگشت بود.Daidzein، یک آنالوگ غیر فعال ژنستین، اثر مهاری مشابهی در INalf) داشت.این نتایج نشان می دهد که کانال های Na + سریع در سلول های سارکوم رحم ممکن است به طور مستقیم توسط ژنستین و دایدزین مسدود شوند، بطوریکه اثر آنها ممکن است مستقل از مهار تیروزین کیناز باشد.کانال های سریع Na + وابسته به ولتاژ ممکن است نقش کلیدی در تحریک پذیری و انتشار عضله صاف رحم در طول کار داشته باشند [1]. پروتئین فسفوریلاسیون (در گروه های سریین و / یا ترئونین) فرایند نظارتی عمده برای تلفیق کانال های یونی مانند کانال های Ca2 + L در سلول های عصبی، سلول های قلب و سلول های عضله صاف است [2،3].در سلولهای عضلانی صاف، cAMP و cGMP (و پروتئین کیناز مربوطه) ،جریان L) Ca /) + Ca2 L2) را تلفیق نمیکند) [1]، در حالی که پروتئین کیناز (PKC) C] مورد ، / 4] (L) Ca رااافزایش میدهد.همچنین برخی گزارش ها در مورد تلفیق کانال های سریع Na + توسط 5] cAMP] یا 6] PKC] وجود دارد.با این حال، در سلول های myometri، cAMP، cGMP، و PKC به نظر نمی رسد ،جریان سریع Na + در (Na(f)1) را تلفیق کند.برای بررسی تلفیق احتمالی کانال های Na + توسط پروتئین کیناز اختصاصی تیروزیین در سلول های رحم، ما اثر ژنستئین، مهار کننده پروتئین کیناز تیروزین (TPK) را بررسی کردیم.

نشان داده شده است که تروستین کیناز با انتقال سیگنال برای عوامل رشد مختلف مانند فاکتور رشد اپیدرمال (EGF)، فاکتور رشد فیبروبلاست (FGF) [8]، فاکتور رشد پلاکتی 9 (PDGF))در ارتباط است.برای انسولین [10]. در سلول های عصبی، این عوامل رشد منجر به بیان کانال های Na + سریع در نورون های پایه ی [11]، FGF جهت افزایش / 12] (L) Ca،13] میباشد.گزارش شده است که مهار کننده های TPK مانند ژنستئین جریان Ca2 را در سلول های عضلانی عروقی برای فعال کردن یک کانال کاتیونی غیر انتخابی [15]متوقف می کنند [14] و با این حال، هیچ گزارشی درمورد تنظیم جریان سریع f) INa) + Na)) توسط TPK منتشر نشده است.

در این مطالعه، ما تلفیق احتمالی کانال های سریع Na+ را با استفاده از TPK در سلولهای لیومیوسارکومای رحم انسان و با مطالعه ی اثر مهارکننده های TPK با استفاده از انبرک جداکننده سلولی مورد بررسی قرار دادیم.سلول (SK-UT-1B)، که از رحم انسان استخراج شده است برای این مطالعه مورد استفاده قرار گرفته است چون این مدل خوبی برای سلول های عضلانی رحم موش های صحرایی باردار است.نشان داده شد که سلول های میوموتریال موش در طول بارداری دیررس، کانال های سریع + Na + را دریافت می کنند که ممکن است در کار طبیعی نقش مهمی ایفا کنند [16،17].ما دریافتیم که سلول لیومیوسارکوم نیز (f) INa را تحت کنترل یک یا چند عامل در سرم قرار می دهند.علاوه بر این، (f) INa تقریبا 10 برابر بیشتر در تراکم در سلول لیومیوسارکوم، در مقایسه با سلول میوموتریال موش صحرایی باردارقرار دارد.ما دریافتیم که (f) INa توسط هر دو مهار کننده TPK، ژنیستئین و آنالوگ غیر فعال آن،یعنی daidzein، مهار می شود.بنابراین، فعالیت TPK درونی ممکن است در تنظیم فعالیت کانال Naé در سلول های میوموتریال دخالت نداشته باشد.

خط سلولی لیومایوسارکوم انسانی از مجموعه تایپ کالچر آمریکایی بدست آمده است. سلولها در تکه های کوچک یخ زده در دمای منفی۸۰ درجه سانتیگراد نگهداری می شوند. برای شروع رشد سلولی، بعضی از مقادیر مجزا به فلاسکهای کشت (25 سانتیمتر پایین) منتقل شدند،و سلول ها در محیط کشت اصلاح شده Dulbecco (DMEM) تکمیل شده با 5٪ سرم جنین گاوی (FBS) (JRH Bioscience، Lenexa، (KS، 100 U / ml پنی سیلین G و 100 / xg / ml استرپتومایسین (Grand Island ،Gibco Laboratories)، درست کرده اند. کشت سلولی

در دمای 37 درجه سانتیگراد در یک جو مرطوب با 5٪ CO 2 و هوای 95٪ و تا زمان پیوست، رشد یافته اند. سلول ها هر دو هفته، منتقل میشدند.برای انتقال تک لایه های مخلوط شده ،از فلاسکها با استفاده از محلول فسفات بافر حاوی آنزیم پروتئولیتیک، دیسپرس (0.5 میلی گرم / میلی لیتر) جدا شدند.محیط کشت هر دو تا سه روز برای تغذیه سلول تغییر داده میشدند. برای آزمایش ها، سلول ها بر روی جلد گذاشته شده و در محیط به مدت 24-72 ساعت روی هم قرار میگرفتند.ضبط ولتاژ کل سلول با یک پمپ مکش و یک تقویت کننده انجام شد(Axopatch-1 D، Axon Instruments، Foster City، USA) ازتکنیک های استاندارد استفاده می کند. الکترودهای وصل شده(2-5 مگاوات) از لوله های مویرگی شیشه ای بوروسیلیکات (World Precision Instruments، USA) ساخته شده است.تعلیق سلولی در یک محفظه کوچک (0.2 میلی لیتر) در مرحله میکروسکوپ معکوس قرار گرفت.برای جداسازی IN ~.)،پیپت با محلول Cs + بالااز ترکیب زیر پر شد:

CsOH, 20CsC1, 110 glutamic acid, 5 MgC12, 10 Hepes, 5 Na2ATP, 10 110 EGTA (pH 7,2) . محلول حاوی 140 NaC1, 2 NiC12, 10 glucose,,10 Hepes -آمینوپریدین 3 4 (pH 7.35)است.

مقاومت رشته ای تا حدودی (تقریبا 80٪) برق را جبران کرد.جریان تراوشی و جریان خازنی باقی مانده با استفاده از پروتکل P / 4 کاسته شد،سیگنال های جریان و ولتاژ در 2 کیلوهرتز فیلتر شده و با یک مبدل A / D دیجیتالی می شوند و با استفاده از نرم افزار pCLAMP بر روی رایانه شخصی IBM-AT تجزیه و تحلیل میشود.ظرفیت غشاء توسط نوسان استخراجی جریان در پاسخ به یک پالس رمپ ولتاژ بالا از 0.2 V / s و از یک پتانسیل نگه دارنده از 0 mV (HP) برای جلوگیری از تداخل هر جریان یونی وابسته به زمان مشخص میشود.همه آزمایشات در اتاقی با دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتیگراد انجام شده است. ژنستین و دایدزین از Calbiochem-Novabiochem Corp به دست آمده اند. این عوامل در محلول پایدار در دی متیل سولفوکسید (DMSO) حل شده و تا زمان استفاده به صورت یخ زده نگه داشته می شوند. غلظت نهایی حداکثر 0.1) DMSO٪))تاثیر بر INa (f ندارد.

داده ها به صورت منحنی های نظری میانگین _ + S.E ارائه می شوند که متناسب با روش لیست اسکورد هستند.

میانگین ظرفیت غشای سلول های سارکوم 2.4 + 37.1 (n = 34) pF می باشد و تحت تاثیر ژنستین یا دایدزین قرار نگرفته است.h ~ f1) با 20 میلی ثانیه ضخامت پالس گاما به 0 mV از HP - 9 0 mV در هر 20 ثانیه استخراج شد. مطالعه اثر ژنستئین هنگامی آغاز شد که INa ~ f) پس از شکستن سلول، تثبیت شد.جریان کاملا توسط (TTX) مهار شد.و خواص سینتیکی، از جمله زمان وقوع غیر فعال شدن و ارتباط ولتاژ جریان، با INa (f) هایی که قبلا برای سلول های ماهیچه ای صاف رحم گزارش کرده بودیم ، سازگار بود [16،17].

cells (SK-UT-1B)

| | Peak $I_{Na(f)}$ (% of control) |
|---|---|
| Genistein 100 $\mu$M | 8.3 ± 1.4 (6) |
| Daidzein 100 $\mu$M | 19.0 ± 3.6 (5) |

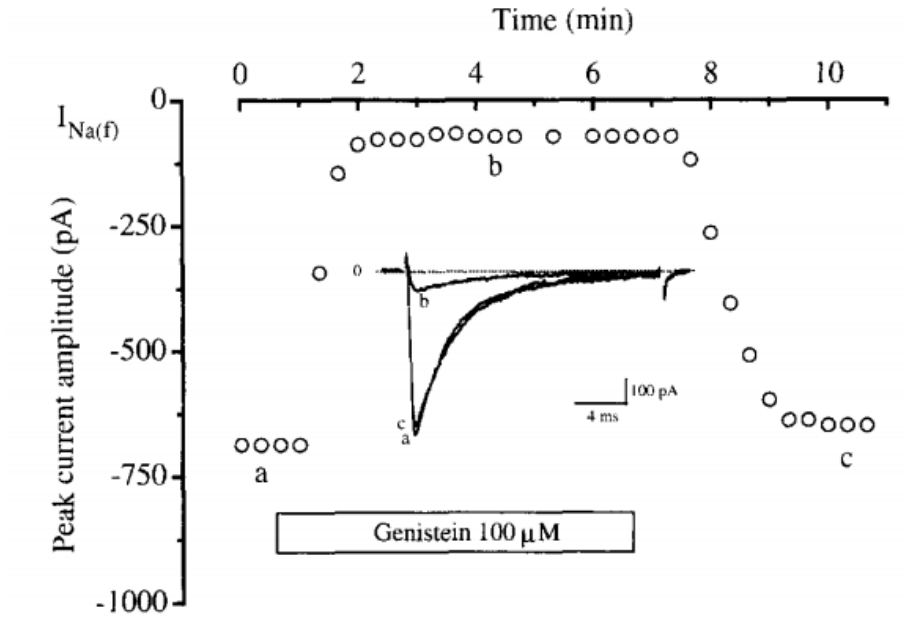
جدول 1

استفاده از ژنستین (100 / xM) باعث کاهش Ls، f ~) به میزان 91.7 ± 1.4٪ (n = 6)میشود.شکل ۱ نشان می دهد که مدت زمان اثر ژنستین درحداکثر جریان در یک آزمایش نمایشی دچار نوسان میشود.کاهش Iya0) در یک بار پس از استفاده از ژنستئین آغاز شد وظرف 2 دقیقه به سطح پایدار رسید.اثر ژنستین بر INa0. )با شستشو تقریبا به طور کامل معکوس شد.اثرات جریان اضافی ، (آ) قبل از و (ب)4 بار پس از استفاده از ژنستین، و (ث) پس از شستشو در جریان درج شده است.رابطه جریان ولتاژ برای اوج Iya ~ f) به طور قابل توجهی توسط ژنستین تغییر نکرد (داده ها نشان داده نمی شود)؛ هیچ تغییر آشکاری در ولتاژ برای آستانه یا جریان اوج وجود نداشت. شکل ۲ منحنی واکنش به دوز برای اثر مهاری ژنسیسین،را نشان می دهد. دامنه پیک INa (f) در حضور ژنیستین بر خلاف غلظت های مختلفی ازدارو به عنوان درصدی از کنترل در نظر گرفته شد. داده‌ها متناسب با معادله هیل می باشد:

$$I_{genistein}/I_{control}\ (\%) = E_{max}/[1 + ([genistein]/IC_{50})^{nH}] + (100 - E_{max}),$$

که در آن Ema ~ حداکثر اثر مهاری است، nH ضریب Hill، است

IC50غلظت داروست که باعث 50٪ اثر مهاری حداکثر می شود. ارزش n n برابر با1.1 بود و مقدار IC50 برابر با9.0 p، M بود. حداکثر اثر بازدارنده به  میزان 98٪ محاسبه شد.

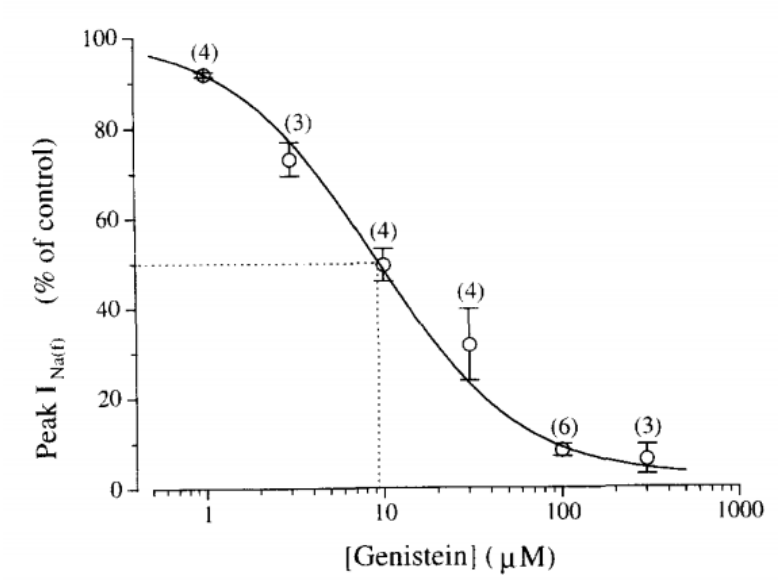



شکل 1

برای بررسی اینکه آیا اثر ژنستین بر روی (r) ~ IN توسط TPK انجام شده است، آزمایشات با استفاده از دایدزین انجام شد،که دارای ساختار مشابهی برای ژنستین است، اما اثر مهاری بر روی TPK ندارد. کابرد دیدرین 100 /xM ،تقریباً به اندازه ژنستین، (t)~IN را کاهش داد.میانگین درصد کاهش اوج / (f) Na توسط دایدزین٪ 81.0 + 3.6٪ (n = 5) تولید شده است.دو غلظت دیگر دایدزین مورد آزمایش قرار گرفت و درصد کاهش در جریان اوج 1/6 ± 3/1 (n = 3) در 1 # M و 40/6 ± 6/6٪ (n = 3) در 10 / بود.دوره ریکاوری از IN~m ، بمحض شست و شوی داروها، گاهی اوقات بسیار سریع بود (به عنوان مثال، در عرض 2 دقیقه) و تکمیل میشد در حالی که در بعضی از آزمایشها کندتر و ناقص بود.تفاوت بین دو دارو وجود ندارد یعنی بازسازی با ژنستین و دایدزین متغیر بوده است.

فهمیدیم که مهار کننده TPK انتخابی، ژنستین، INa / V وابسته به دوز در سلول های لیومیوسارکومای رحم انسانی را مهار می کند. مهار حداکثر تقریبا 100٪ بود و مقدار / IC50 =9، M بود.شروع مهار IN ~،) تولید شده توسط

ژنستین سریع بود (در عرض چند دقیقه)،واثرخیلی سریع از بین رفت. آنالوگ ژنسیسین غیر فعال، daidzein، همچنین کاهش مشابهی از جریان را ایجاد کرد.

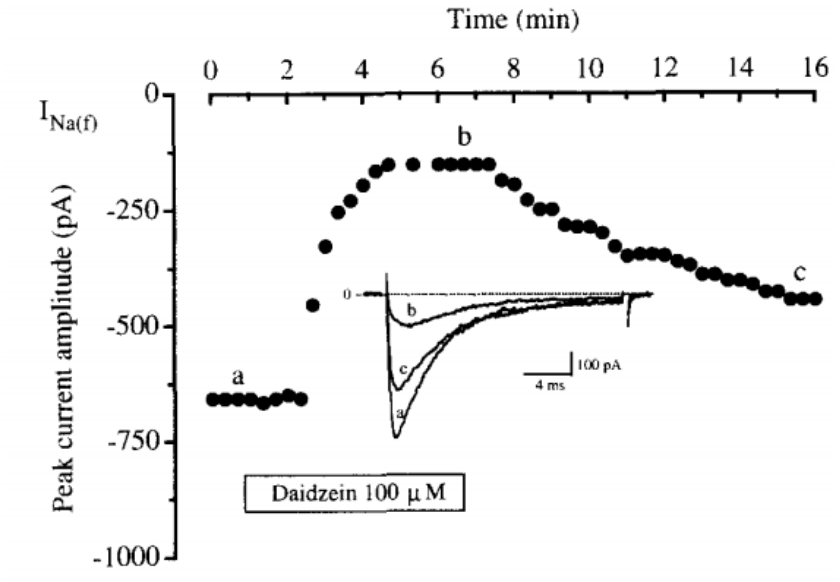



شکل 2

این نتایج نشان می دهد که مهار INTIATTT تولید شده توسط ژنستین ممکن است نتواند با مهاردرونی فعالیت TPK موثر باشد.ولی ممکن است برکانال یون تاثیر مستقیم داشته باشد. ما معتقدیم که این می تواند درست باشد اگر چه غلظت محدوده ژنستین که در این مطالعه IN,it. را تحت تاثیر قرار می دهند با آنچه که برای مهار کینازهای تیروزین مورد نیاز است، قابل مقایسه است. ضریب Hill 1.1 (شکل 2) نشان می دهد که یک مولکول دارو برای جلوگیری از کانال یونی کافی است.

یک عمل مستقیم مسدود کننده ژنستین در کانال های Na + محتمل است. ژنستئین و دایدزین دارای اثرات مهار کننده قوی مشابه بر ( n /Nail) هستند.مقادیر IC50 مربوط به این عوامل برای مهار گیرنده ی کیناز EGF، به ترتیب 2.6 / xM و> 370 /، M گزارش شده اند. بنابراین، در غلظت های مورد استفاده در این مطالعه (1-100 / xM)، دایدزین نباید روی TPK تاثیر بگذارد.مطابق با یافته های ما، مشتقات تریفوستین فعال و غیر فعال، برای مهار LC (c) در سلول های عضلانی صاف عروقی گزارش شده اند.این موضوع، شواهدی را برای عمل مستقیم این عوامل در پروتئین های کانال یونی فراهم می کند.به علاوه شروع سریع اثر ژنستئین و افست سریع (تخلیه بازیابی) ممکن

است عملکرد مستقیم بر روی سطح بیرونی کانال را نشان دهد. از آنجا که حداکثر درجه مهار Nail) تقریبا 100٪ بود (شکل 2)، این منطبق با مکان  عملکرد مستقیم بر روی پروتئین کانال است.




شکل 3

بر خلاف نتایج کنونی، ما دریافتیم که در سلول‌های میوموتریال موش های صحرایی باردار، ژنستین Ica را مهار می کند ، فقط حدود 50٪ ا کنترل میکند، و دایدزین اثری نداشته است.مهار ژنستین lc~{c ،با مهار فعالیت TPK ،ایجاد شده است که تحریک قوی کانال های Ca2 با فسفوریلاسیون با TPK وجود دارد.در مقابل، آزمایش های کنونی نشان می دهند که کانال های سریع Na +به احتمال زیاد توسط فسفوریلاسیون با TPK تعدیل نمی شود و این دارو به عنوان یک مسدود کننده مستقیم کانال های Na + عمل می کند.

به طور خلاصه، ژنستئین Ixal ~) را درسلولهای لیومیوسارکوم رحم انسان مهار میکند.این اثر ممکن است  به وسیله ی مها رTPK  انجام نشود اما برروی  کانالهای Na+ تاثیر مستقیم داشته باشد. نتایج نشان می دهند که مهار ژنستین Na(f)/ ، در غلظت مشابهی که برای مهار فعالیت TPK  نیاز است، به عنوان هشداری به کار می رود که چنین داروهای ممکن است بیش از یک عملکرد داشته باشند. بنابراین محققان  بر این عقیده هستند که استفاده از این مهار کننده های آنزیمی باید آگاهانه و با احتیاط باشد.

این کاربا کمک مالی از موسسه ملی بهداشت حمایت شد. (HL-26170).

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

✔ لیست مقالات ترجمه شده

✔ لیست مقالات ترجمه شده رایگان

✔ لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی