Journal of Ilam University of Medical Sciences
P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Induction of Anti-inflammatory Functions in Peripheral Blood Monocytes by Dopamine in Vitro

Hanieh Nikkhah [1], Seyyed Meysam Abtahi Froushani [1*], Habbib Dastmalchi Saei [1], Nahideh Afzale Ahangaran [1]

[1] Dept of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: Oct. 15, 2022
Revised: July. 28, 2023
Accepted: Jan. 01, 2024
Published Online: Jun. 12,2024

**** Correspondence to:***
Seyyed Meysam Abtahi Froushani
Dept of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine,
Urmia University, Urmia, Iran
Email:
sm.abtahi@urmia.ac.ir

A B S T R A C T

Introduction: Nowadays, some aspects of neuroendocrine and immune systems intercalation are already known. Accordingly, it has been shown that certain immune cells, such as monocytes, can produce and store dopamine in their secretory vesicles. This study was conducted to investigate the effects of dopamine on some immunological functions of the rat peripheral blood monocytes.

Material & Methods: In this experimental study, peripheral blood mononuclear cells of rats were isolated by a ficoll-hypaque gradient. Afterward, the plastic adherent fractions were used as monocytes. Monocytes in the treatment group cocultured for 24 h with 5×10-7 M dopamine, and then their phagocytosis performance, respiratory burst, killing ability, nitric oxide production, neutral red harvest, vital ability, and NF-κB gene expression were investigated.

Results: The results of this study showed that both control or treatment monocytes showed no significant difference in phagocytosis after the challenge with opsonized yeast. Nevertheless, the neutral red uptake, respiratory burst, and nitric oxide production after the challenge with opsonized yeast, and also the expression of NF-κB, were decreased in dopamine-treated monocytes compared to monocytes in the control group ($P<0.05$). The monocyte vitality of the treatment group did not show any significant effects compared to the monocytes of the control group.

Discussion & Conclusion: It seems that dopamine dynamically creates an anti-inflammatory phenotype in the monocyte. Therefore, alongside a decrease in the lysosomal compartment activity, the monocytes produce lower levels of free oxygen and nitrogen radicals.

Keywords: Dopamine, Monocytes, Rat

➢ **How to cite this paper**
Nikkhah H, Abtahi Froushani SM, Dastmalchi Saei H, Afzale Ahangaran N . Induction of Anti-inflammatory Functions in Peripheral Blood Monocytes by Dopamine in Vitro. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2024;32(2): 17-31.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

© The Author(s) Publisher: Ilam University of Medical Sciences

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام
P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸
E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

القای عملکردهای ضدالتهابی در مونوسیت‌های خون محیطی رت توسط دوپامین در شرایط آزمایشگاهی

هانیه نیک خواه[۱]، سید میثم ابطحی فروشانی[۱*]، حبیب دستمالچی ساعی[۱]، ناهیده افضل آهنگران[۱]

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی،دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۲۳
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۵/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۱
تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۳/۲۳

نویسنده مسئول:
سید میثم ابطحی فروشانی
گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی،دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
Email:
sm.abtahi@urmia.ac.ir

چکیده

مقدمه: امروزه تا حدودی برخی از جنبه‌های ارتباط متقابل دستگاه نوروآندوکراین و دستگاه ایمنی شناخته‌شده است. بر اساس این، نشان داده‌شده است که برخی از سلول‌های ایمنی از قبیل مونوسیت‌ها قادر به تولید و ذخیره‌سازی دوپامین در وزیکول‌های ترشحی خود هستند. هدف از مطالعهٔ حاضر بررسی تأثیر دوپامین بر عملکردهای ایمونولوژیک مونوسیت‌های خون محیطی رت است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعهٔ تجربی، سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی به کمک گرادیان فایکول-هایپک از خون محیطی رت‌ها جدا شدند؛ سپس از بخش چسبندهٔ این سلول‌ها به کف فلاسک به‌عنوان سلول‌های مونوسیت استفاده گردید. سلول‌های مونوسیت در گروه تیمار به مدت ۲۴ ساعت با دوپامین در غلظت ۷-۱۰×۵ مولار مجاور شدند و آنگاه عملکرد فاگوسیتوز، انفجار تنفسی، قابلیت کشتار، تولید نیتریکاکساید، برداشت نوترال رد، قابلیت حیاتی و میزان بیان ژن NF-κB آن‌ها بررسی گردید.

یافته‌های پژوهش: نتایج این مطالعه نشان داد که مونوسیت‌های کنترل و تیمار هیچ تفاوت معنی‌داری در فاگوسیتوز پس از چالش با مخمر اپسونیزه ندارند. با وجود این، میزان برداشت نوترال رد، شدت انفجار تنفسی و تولید نیتریک‌اکساید پس از چالش با مخمر اپسونیزه و همچنین میزان بیان NF-κB در مونوسیت‌های تیمارشده با دوپامین، نسبت به گروه شاهد، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0.05$). البته فعالیت زیستی مونوسیت‌های گروه تیمار نسبت به مونوسیت‌های گروه شاهد، تغییر معنی‌داری پیدا نکرد.

بحث و نتیجه‌گیری: در کل به‌نظر می‌رسد که دوپامین به‌طور پویا موجب ایجاد یک فنوتیپ ضدالتهابی در سلول‌های مونوسیت می‌شود، به‌طوری‌که این مونوسیت‌ها در کنار کاهش فعالیت بخش لیزوزومی، میزان کمتری از رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن را تولید می‌کنند.

واژه‌های کلیدی: دوپامین، مونوسیت، رت

استناد: نیک خواه هانیه، ابطحی فروشانی سیدمیثم، دستمالچی ساعی حبیب، افضا آهنگران ناهیده. القای عملکردهای ضدالتهابی در مونوسیت‌های خون محیطی رت توسط دوپامین در شرایط آزمایشگاهی. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام، خرداد ۱۴۰۳؛۳۲(۲): ۳۱-۱۷.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

مقدمه

شواهد در حال ظهور نشان داده‌اند که دستگاه عصبی ارتباط نزدیکی با دستگاه ایمنی دارد و محیطی که توسط واسطه‌های عصبی ارائه می‌شود، نقش مهمی در پلاریزه شدن پاسخ‌های ایمنی ایفا می‌کند (۱). دوپامین یک مادهٔ شیمیایی آلی از خانوادهٔ کاتکول‌آمین و فنتیل‌آمین‌ها است که چندین نقش مهم را در مغز و بدن بر عهده دارد؛ در مغز به‌عنوان یک نوروترانسمیتر عمل می‌کند، درحالی‌که خارج از دستگاه اعصاب مرکزی، عملکرد دوپامین در چندین بخش از دستگاه اعصاب محیطی به‌عنوان یک واسطهٔ شیمیایی در عروق خونی است (۳، ۲). سیستم دوپامینرژیک عملکردهای بسیار مهم دستگاه عصبی را تنظیم می‌کند؛ مانند کنترل رفتارهای حرکتی مرتبط با پاداش و همچنین شناخت محیط (۴). تغییرات در سیگنال‌های دوپامینرژیک نقش عمده‌ای در پاتوژنز بیماری پارکینسون و بیماری التهابی روده ایفا می‌نماید. هردوی این بیماری‌ها با شرایط التهابی و اختلالات ایمنی مرتبط هستند (۵، ۴). علاوه بر دستگاه عصبی، اطلاعات فراوانی در دسترس است که نشان می‌دهد توانایی تولید، ذخیره و آزادسازی دوپامین به دستگاه عصبی محدود نمی‌شود و سلول‌های ایمنی نیز چنین قابلیت‌هایی را دارند. توانایی تولید دوپامین در سلول‌های ایمنی، به‌ویژه سلول‌های دندریتیک و لنفوسیت‌های T به‌خوبی ثبت‌شده است (۶). میزان دوپامین در خون رت‌ها در شرایط عادی در حد ng/ml 6/0 تخمین زده‌شده است (۲). گیرنده‌های دوپامین در سلول‌های پاسخ ایمنی ذاتی از قبیل سلول‌های مونوسیت، دندرتیک، سلول‌های کشندهٔ طبیعی، ماکروفاژها، مونوسیت‌ها و نیز در سلول‌های پاسخ ایمنی اکتسابی وجود دارد (۲). دو زیرخانواده از دوپامین به نام‌های D1 و D2 شناسایی‌شده است؛ زیرخانوادهٔ D1 شامل رسپتورهای زیرگونهٔ D1 و D5 است که باعث تشکیل چرخهٔ AMP از طریق تحریک آدنیلات سیکلاز می‌شود و زیر خانوادهٔ D2 شامل تحت گونهٔ D2، D3 و D4 است که چرخهٔ آدنیلات سیکلاز را مهار می‌کند (۷).

مونوسیت‌ها عضوی از گروه متنوع سلولی به نام لوکوسیت‌ها هستند. مونوبلاست‌ها و پرومونوسیت‌ها پیش‌سازهای مونوسیت‌ها هستند که از ردهٔ میلوئیدی مغز استخوان منشأ می‌گیرند و در جریان خون تبدیل به مونوسیت می‌شوند (۸). این سلول‌ها در خون، مغز استخوان و طحال حضور دارند و قابلیت تکثیر ندارند. در پاسخ‌های التهابی بدن به‌واسطهٔ داشتن گیرنده‌های کموکاینی و مولکول‌های چسبنده، با مهاجرت از خون به مکان‌های ملتهب، به ماکروفاژ و سلول‌های دندریتیک التهابی تبدیل می‌شوند که از مقدم‌ترین سلول‌ها در برخورد با عوامل بیگانه هستند (۹، ۸). مونوسیت‌ها حداکثر ۱۰ درصد از سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی را تشکیل می‌دهند و علاوه بر تمایز به سلول‌های ماکروفاژ و دندریتیک، عملکرد پاک‌سازی و برداشت مولکول‌های توکسین و بیگانه، به‌عنوان سلول یاری‌دهندهٔ لنفوسیت‌های B و T عمل می‌کنند. خون محیطی به‌عنوان منبع اصلی این سلول‌ها به‌منظور مطالعه روی خصوصیات بیولوژیکی و ایمنی‌شناختی مونوسیت‌ها است (۹).

با وجود اینکه حضور گیرنده‌های پاسخ‌گو به دوپامین در سطح مونوسیت‌ها نشان داده‌شده است، عمدهٔ تحقیقات موجود دربارهٔ آثار دوپامین محدود به تأثیرات آن بر ایمونوفنوتیپ و قابلیت‌های مهاجرتی منوسیت‌ها بوده؛ اما تاکنون تحقیق چندانی دربارهٔ نقش دوپامین در شکل‌دهی به اعمال اصلی مونوسیت‌ها صورت نگرفته است؛ بنابراین، در این پژوهش بر آن شدیم که به بررسی تأثیر دوپامین بر عملکردهای فاگوسیتوز، انفجار تنفسی، قابلیت کشتار، تولید نیتریکاکساید، برداشت نوترال رد، قابلیت حیاتی و میزان بیان ژن NF-κB مونوسیت‌های خون محیطی رت بپردازیم. هدف از این تحقیق ارزیابی آثار دوپامین بر میزان فاگوسیتوز، انفجار تنفسی، قابلیت کشتار، تولید نیتریک‌اکساید، برداشت نوترال رد، قابلیت حیاتی در مونوسیت‌های خون محیطی پس از چالش با مخمر اپسونیزه و ارزیابی آثار دوپامین بر میزان بیان ژن NF-κB است.

مواد و روش‌ها

جامعه پژوهش و گروه‌ها: به‌منظور مطالعهٔ اثر دوپامین بر عملکرد مونوسیت‌های خون محیطی، دستکم از ۱۰ رأس رت نژاد ویستار شش الی هشت هفته استفاده شد. پس از

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

جداسازی مونوسیت‌ها از خون محیطی هر رت، به انجام همهٔ آزمایش‌های زیر در حضور دوپامین (۷-۱۰×۵ مولار) و یا حضور نداشتن دوپامین پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته مونوسیت‌ها اقدام گردید. به این منظور، از هر رت سه بار به فاصلهٔ دو هفته خون‌گیری به عمل آمد. میزان دوپامین بر اساس غلظت دوپامین در شرایط استرس در محل‌های تحت آسیب بافتی انتخاب‌شده است (۱۱، ۱۰).

جداسازی مونوسیت‌ها: ابتدا ۳ میلی‌لیتر خون هپارینه از رت‌ها اخذ گردید و با ۳ میلی‌لیتر محیط کشت RPMI-1640 به‌آرامی فالکون مخلوط شد؛ سپس خون رقیق‌شدهٔ حاصل را به‌آرامی و با پیپت پاستور بر روی فایکول (در حجم خون اولیهٔ رقیق نشده) قرار گرفت. پس از آن، نمونه در rpm2500 به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید؛ سپس سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) که در حد فاصل فایکول و خون رقیق‌شده به‌صورت لایه‌ای ابری جمع شده بودند، به‌آرامی و با حرکت دَوَرانی سمپلر برداشته شد. به‌منظور حذف بقایای فایکول، تقریباً یک‌ونیم برابرِ مقدار لایهٔ ابری برداشت‌شده توسط سمپلر با محیط کشت RPMI-1640 مخلوط و با سرعت rpm2000 در ده دقیقه سانتریفوژ شد. در ادامه و برای حذف پلاکت‌ها، سلول‌های حاصل با سرعت rpm1000 به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردیدند. سلول‌های استحصال‌شده با یک میلی‌لیتر محیط کشت RPMI-1640 به حالت سوسپانسیون درآمدند.

برای خالص‌سازی سلول‌های مونوسیت از لنفوسیت‌های همراه، از خاصیت چسبندگی مونوسیت‌ها به سطوح پلاستیکی استفاده شد. به‌منظور بررسی بیان ژن، سلول‌ها در پلیت‌های شش‌خانه و برای آزمایش‌ها ایمونولوژیک، سلول‌ها به پلیت‌های ۲۴ خانه منتقل گردیدند و پس از گذشت دو ساعت، محلول رویی دور ریخته و سلول‌های مونوسیت چسبیده به کف پلیت با استفاده از ترکیب لیدوکائین (4 mg/ml) و EDTA 10 میلی‌مولار جدا شد. شمارش سلول‌ها به روش متداول تریپیان بلو صورت گرفت (۱۲، ۹).

تیمار مونوسیت‌ها با دوپامین: مونوسیت‌های استحصالی از هر حیوان با غلظت‌های صفر و غلظت ۷-۱۰×۵ مولار از دوپامین به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده و کشت شدند. همان‌طور که ذکر گردید، میزان دوپامین بر اساس غلظت دوپامین در شرایط استرس در محل‌های تحت آسیب بافتی انتخاب‌شده است. (۱۱، ۱۰). آنگاه به‌منظور حذف دوپامین باقی‌مانده، سلول‌ها چند بار با محیط کشت RPMI-1640 شسته شدند.

آزمون احیای MTT: در هر خانه از پلیت ۹۶ خانهٔ ته‌تخت، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سلول مونوسیت (cell/ml 1×106) در دو گروه تیمارشده و تیمارنشده منتقل گردید؛ سپس ۲۵ میکرولیتر از محلول MTT (پنج میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به هر چاهک اضافه شد و به مدت چهار ساعت در انکوباتور قرار گرفت؛ سپس به هر خانه مقدار ۱۰۰ میکرولیتر DMSO افزوده و توسط دستگاه الایزانگار در طول‌موج ۴۹۲ نتیجهٔ کار قرائت گردید(۱۳).

آزمون برداشت نوترال رد: حجم برابر از سوسپانسیون مونوسیت (cell/ml 1×106) و محلول نوترال رد (۰/۳۳ درصد) به مدت دو ساعت در انکوباتور قرار گرفت. پس از دو بار سانتریفیوژ سلول‌ها (rpm 2000 به مدت ده دقیقه) به‌منظور حذف رنگ‌های نوترال رد برداشت‌نشده، هم‌حجم مقدار اولیه اسید استیک ۱ درصد در الکل ۵۰ درصد (یک گرم اسید استیک در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول و ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به آن‌ها اضافه شد تا رنگ‌های اندوسیتوزشده آزاد گردند. مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از محلول حاصل از لیز سلول‌ها در هر چاهک از میکروپلیت ۹۶ خانهٔ ته‌تخت ریخته و توسط دستگاه الایزانگار در طول‌موج ۴۹۲ نتیجهٔ کار خوانده شد (۱۴).

ارزیابی قابلیت انفجار تنفسی سلول‌های مونوسیت: نیم میلی‌لیتر از سوسپانسیون مونوسیت (cell/ml 1×106) و نیم میلی‌لیتر سوسپانسیون مخمر اپسونیزه (cell/ml 5×106) به‌اضافهٔ نیم میلی‌لیتر محلول NBT 1/0 درصد به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. پس از پایان انکوباسیون، سلول‌ها در rpm 2000 به مدت ده دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از برداشت مایع رویی (حاوی مخمر

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

برداشت‌نشده)، سه قطره متانول ۷۰ درصد به سلول‌ها افزوده و ده دقیقه صبر گردید تا الکل حذف شود؛ سپس مونوسیت‌ها با بافر PBS به حجم ۱/۵ میلی‌لیتر رسانیده و به‌خوبی پیپتینگ شدند. در هر خانهٔ پلیت ۹۶ خانه ته‌تخت، ۲۰۰ میکرولیتر از مونوسیت‌ها افزوده گردید. اکنون به هرکدام از خانه‌ها ۱۰۰ میکرولیتر KOH دو مولار و ۲۰۰ میکرولیتر DMSO افزوده و با پیپتینگ مکرر سلول‌ها لیز شدند در طی این مرحله، فورمازان تشکیل‌شده درنتیجهٔ احیای NBT به دنبال انفجار تنفسی ناشی از برداشت مخمر اپسونیزه به حالت محلول درخواهند آمد. درنهایت، دانسیتهٔ نوری (OD) با دستگاه الایزا نگار در طول‌موج ۴۹۲nm خوانده شد (۱۴).

سنجش میزان تولید نیتریک اکساید توسط مونوسیت‌ها: به‌طور خلاصه، یک میلی‌لیتر سوسپانسیون مونوسیت (cell/ml 106×1) در بافر PBS با یک میلی‌لیتر مخمر کاندیدا آلبیکنس (cell/ml 106×5/2) اپسونیزه‌شده به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید. پس از سانتریفوژ سلول‌ها در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه، محلول رویی برداشته و میزان تولید نیتریک اکساید در آن به شیوهٔ گریس سنجیده شد (۱۳).

سنجش عملکردهای فاگوسیتوز و میکروب‌کشی مونوسیت‌ها: نیم میلی‌لیتر سوسپانسیون مونوسیت (cell/ml 106×1) با ۱۰۰ میکرولیتر سرم رت به مدت ۵ دقیقه به‌عنوان گروه آزمایش (T) انکوبه گردید؛ همچنین به‌عنوان گروه شاهد (C)، نیم میلی‌لیتر بافر PBS با ۱۰۰ میکرولیتر سرم رت به مدت ۵ دقیقه انکوبه شد. آنگاه ۱۰۰ میکرولیتر مخمر کاندیدا آلبیکنس (ml/106×5) در بافر PBS به هر دو گروه آزمایش و شاهد اضافه گردید. از هر دو لوله آزمایش و شاهد به میزان ۱۰ میکرولیتر در زمان‌های صفر و ۹۰ دقیقه نمونه‌برداری شد. به هر نمونه ده میلی‌لیتر آب مقطر با pH برابر با ۱۱ اضافه گردید و چندین بار عمل پیپتینگ صورت گرفت. از هر لوله ۵ بار نمونه‌های ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به هر خانه از پلیت ۹۶ خانهٔ ته‌تخت اضافه شد.۲۰ میکرولیتر از محلول MTT (پنج میلی‌گرم در میلی‌لیتر محلول PBS) به هر چاهک افزوده گردید و به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شدند؛ سپس با افزودن ۱۵۰ میکرولیتر DMSO کریستال‌های فورمازان حل گردید و نتیجه در طول‌موج ۴۹۲ نانومتر خوانده شد. درصد باکتری‌کشی از رابطهٔ شمارهٔ ۱ به‌دست آمد (۱۵):

KILLING%=100-(100×ODT90)/ODT (۱)

به‌منظور تعیین درصد فاگوسیتوز با استفاده از سانتریفیوژ تفریقی (مدت ده دقیقه در ۱۵۰g در چهار درجهٔ سانتی‌گراد)، باکتری‌های فاگوسیت‌نشده پس از ۹۰ دقیقه انکوباسیون جدا گردید و تعداد آن‌ها به شیوهٔ افزون ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT (۵ میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر PBS)، ۳۰ دقیقه انکوبه، افزودن ۱۵۰ میکرولیتر DMSO، حل شدن کریستال‌های فورمازان و خوانش نتیجه در طول‌موج ۴۹۲ نانومتر صورت گرفت. درصد فاگوسیتوز از رابطهٔ شمارهٔ ۲ به‌دست آمد (۱۵):

PHAGOCYTOSIS%=100×(ODT90-(E/G)/ODT0) (۲)

G=ODC90/ODC0

ارزیابی میزان بیان ژن NF-κB: به‌منظور استخراج RNA از سلول‌های مونوسیت تیمارشده با دوپامین و سلول‌های تیمارنشده با دوپامین از کیت استخراج RNA شرکت سیناکلون استفاده گردید (PR891620, SinaPure RNA, Iran). غلظت RNA با استفاده از دستگاه NanoDropTM انجام شد. آزمون RT-PCR برای ژن NF-κB با استفاده از جفت پرایمرهای اختصاصی ژن NF-κB انجام می‌شود. این پرایمرها توسط شرکت سیناکلون تهیه گردید و اندازهٔ محصول RT-PCR حاصل از تکثیر و ردیف بازهای آن در جدول شمارهٔ ۱ آمده است.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

جدول شماره ۱. دستور جستجوی پایگاه‌های اطلاعاتی

پرایمر	نوع پرایمر	طول محصول (bp)	توالی پرایمر (′3-′5)
NF-κB	رفت	۲۹۹	5′-CAGAGGGACAACAGCAATGA-3′
	برگشت		5′-CCGTGTAAACCAAAGCCTA-3′
GAPDH	رفت	۵۳۲	5′-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3′
	برگشت		5′-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3′

سیکل حرارتی برای تکثیر ژن‌های NF-κB و GAPDH، به‌عنوان کنترل داخلی، بر اساس کیت DiaStar™ OneStep RT-PCR Kit (DR61-K050, Solgent, Korean) در جدول شمارهٔ ۲ نشان داده‌شده است. محصولات RT-PCR بر روی ژل آگارز الکتروفورز گردیدند. در انتها با انتقال ژل به دستگاه Trans Illuminator و تابش اشعه ماوراءبنفش باندها ظاهر شدند و با مقایسهٔ موقعیت قطعهٔ تکثیرشده با اندازهٔ باندهای مربوط به نشانگر، اندازهٔ محصول RT-PCR مشخص گردید و عکس‌برداری شد. برای Optical Analysis دانسیتهٔ باندهای حاصل از الکتروفورزیز از نرم‌افزار ImageJ 2x استفاده گردید.

جدول شماره ۲. برنامهٔ دمایی واکنش RT-PCR برای ژن NF-κB و GAPDH

چرخه	مراحل	درجهٔ حرارت (درجهٔ سانتی‌گراد)	مدت‌زمان
۱	5X OneStep RT-PCR Buffer	۵۰	۳۰ دقیقه
۱	10mM dNTP mix	۹۵	۱۵ دقیقه
(NF-κB)۳۵ (GAPDH)۳۰	Forward Primer Reverse Primer Template DNA	۹۵ ۵۲ ۷۲	۲۰ ثانیه ۴۰ ثانیه ۶۰ ثانیه
۱	5X Band Doctor™	۷۲	۵ دقیقه

تجزیه‌وتحلیل آماری: همهٔ داده‌ها بصورت میانگین±انحراف معیار گزارش شد. داده‌ها با استفاده از روش آزمون t-student زوج‌شده در نرم‌افزار SPSS vol.21 تجزیه‌وتحلیل گردید. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل ویراست ۲۰۱۶ استفاده شد.

یافته‌های پژوهش

تأثیر دوپامین بر قابلیت حیانی مونوسیت‌ها: هدف از انجام آزمون احیای MTT در این پژوهش ارزیابی میزان زنده‌مانی و قابلیت حیاتی سلول‌های مونوسیت پس از تیمار با دوپامین بود. بر اساس نتایج این تحقیق به‌نظر نمی‌رسد که میزان زنده‌مانی و قابلیت حیاتی سلول‌های مونوسیت پس از مجاورت با دوپامین در حداکثر غلظت فیزیولوژیک (غلظت ۱۰-۷×۵ مولار) پس از گذشت ۲۴ ساعت تغییر معنی‌داری بیابد. شدت جذب نوری در گروه مونوسیت‌های شاهد ۵۴۸/۰۹±۰/۰ و در مونوسیت‌های گروه تیمار ۰/۰۸±۰/۵ بود که از نظر آماری اختلافی نداشتند (نمودار شمارهٔ ۱).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

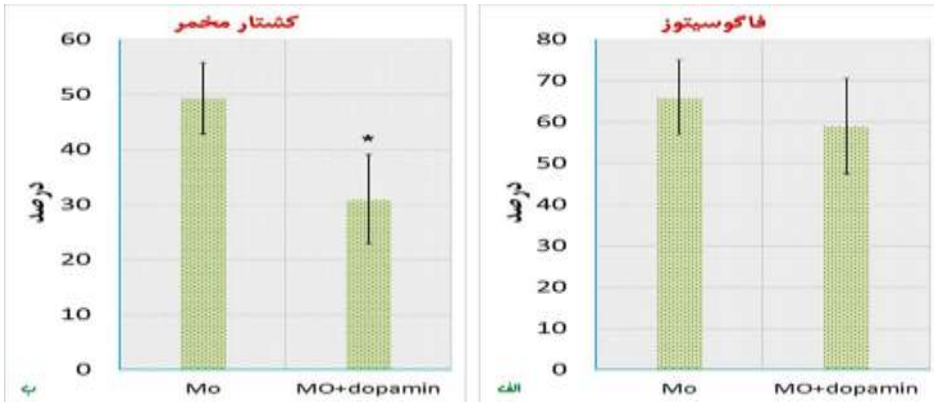
نمودار شماره ۱. نتایج ارزیابی قابلیت حیاتی سلول مونوسیت‌ها (MO) پس از تیمار ۲۴ ساعته با دوپامین (۷-۱۰×۵ مولار).

ارزیابی قابلیت اندوسیتوز مونوسیت‌ها به دنبال تیمار با دوپامین: قابلیت اندوسیتوز، فاگوسیتوز و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن پس از برداشت میکروب‌های اپسونیزه ازجملهٔ مهم‌ترین عملکردهای یک سلول مونوسیت/ ماکروفاژ است. نوترال رد رنگی کاتیونی است که پس از برداشته شدن توسط مونوسیت‌ها در بخش لیزوزومی تغلیظ می‌گردد. آزمایش نوترال رد به‌عنوان شاخصی از قابلیت غشایی و قدرت اندوسیتوز سلول‌های مونوسیت در نظر گرفته می‌شود. شدت جذب نوری قرائت‌شده در آزمون برداشت نوترال رد در گروه مونوسیت‌های شاهد ۱/۵±۰/۲۳ و در مونوسیت‌های گروه تیمار ۰/۳۹±۰/۱۴ بود. بر اساس نمودار شمارهٔ ۲ به‌نظر می‌رسد که تیمار سلول‌های مونوسیت با دوپامین به‌طوری معنی‌داری به کاهش قابلیت برداشت نوترال رد توسط سلول‌های مونوسیت منجر شده است.

نمودار شماره ۲. نتایج ارزیابی برداشت نوترال رد توسط مونوسیت‌ها (MO) پس از تیمار ۲۴ ساعته با دوپامین (۷-۱۰×۵ مولار).* نشانهٔ اختلاف معنی‌دار در سطح $P<0.05$ نسبت به گروه مونوسیت‌های تیمارنشده است.

بررسی قابلیت فاگوسیتوز مونوسیت‌ها به دنبال تیمار با دوپامین: پس از مواجهه با مخمر اپسونیزه، سلول‌های مونوسیت با استفاده از گیرنده‌های اپسونیک خود اقدام به برداشت این عوامل می‌کنند و سپس آن‌ها را نابود می‌سازند. مطابق نمودار شمارهٔ ۳. الف مشخص است که میزان فاگوسیتوز مخمر اپسونیزه توسط سلول‌های مونوسیت پس از مجاورت با دوپامین تغییر معنی‌داری نیافته است. درصد فاگوسیتوز در گروه مونوسیت‌های شاهد ۱۰/۳۳±۶۶/۲۳ درصد و در مونوسیت‌های گروه تیمار ۱۳/۰۹±۵۸/۱۸ درصد بود؛ بااین‌حال، قابلیت نابودسازی یا کشتن سلول‌های مخمر اپسونیزه توسط مونوسیت‌ها مطابق نمودار ۳. ب کاهش یافت. درصد فاگوسیتوز در گروه مونوسیت‌های شاهد ۲۳/۳۳±۶۶/۱۰ درصد و در مونوسیت‌های گروه تیمار ۱۸/۰۹±۵۸/۱۳ درصد بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان دادند.

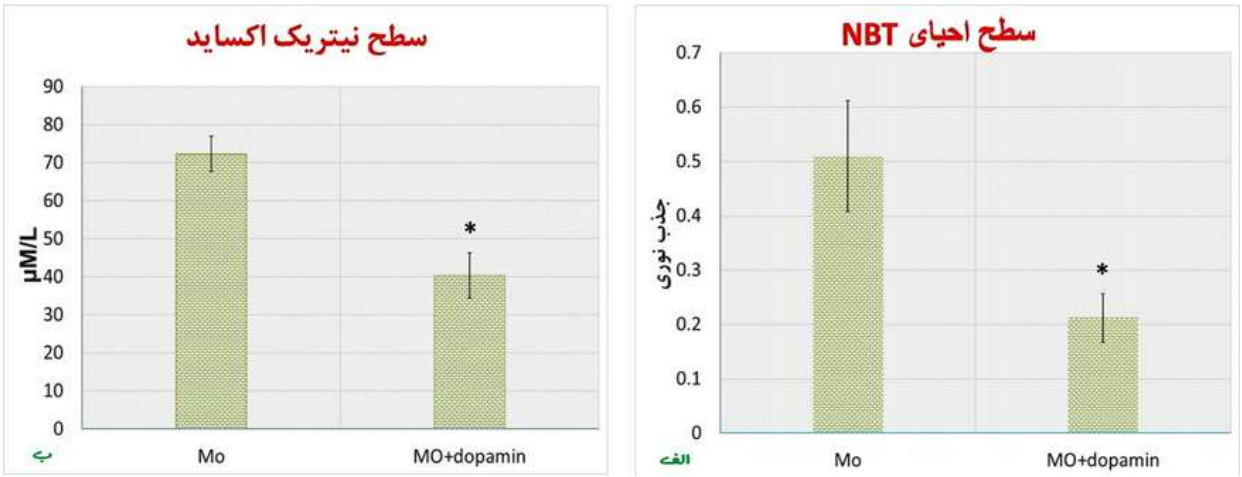
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]



نمودار شماره ۳. ارزیابی میزان فاگوسیتوز (الف) و کشتن (ب) مخمر اپسونیزه توسط مونوسیت‌ها (MO) پس از تیمار ۲۴ ساعته با دوپامین (۷-۱۰×۵ مولار).* نشانهٔ اختلاف معنی‌دار در سطح $P<0.05$ نسبت به گروه مونوسیت‌های تیمارنشده است.

تأثیر تیمار دوپامین بر عملکردهای انفجار تنفسی و تولید نیتریک اکساید توسط مونوسیت‌ها: سلول‌های فاگوسیت‌کننده پس از برداشت اجرام اپسونیزه، از طریق تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن اقدام به نابودی میکروب‌ها می‌کنند. آزمون احیای NBT شاخصی از شدت انفجار تنفسی توسط سلول‌های مونوسیت است. رنگ NBT پس از برداشته شدن توسط آنیون سوپراکسید در داخل فاگوزوم‌ها احیا می‌شود و تبدیل به کریستال‌های فورمازان می‌گردد. افزوده شدن DMSO و KOH به حل شدن کریستال‌های فورمازان منجر می‌شود که شدت آن متناسب با میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. همان‌طور که در نمودار شمارهٔ ۴. الف مشخص است، تیمار دوپامین موجب کاهش قابلیت سلول‌های مونوسیت در انفجار تنفسی و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده است. میزان جذب نوری قرائت‌شده در گروه مونوسیت‌های شاهد ۰/۱۳±۰/۵۴ و در مونوسیت‌های گروه تیمار ۲۴/۳۹±۰/۰ بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان دادند.

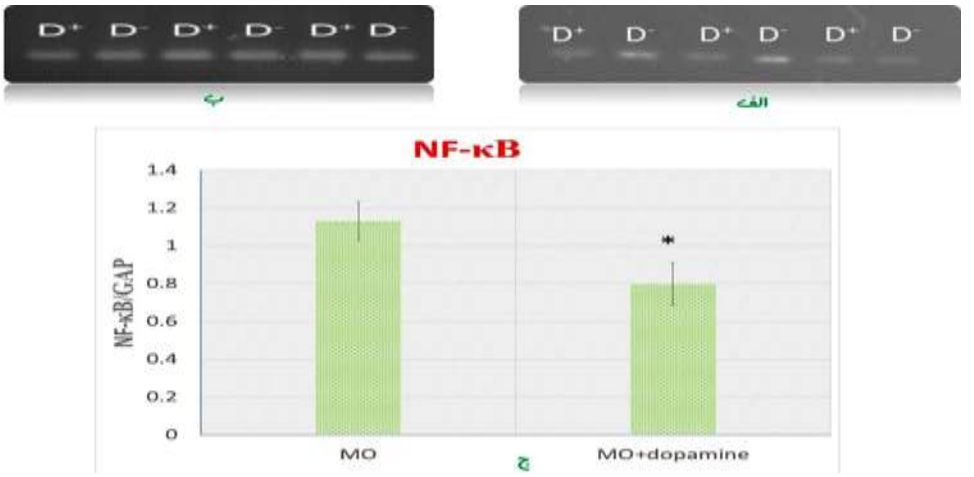
از آزمون گریس در این مطالعه به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی قابلیت تولید رادیکال‌های آزاد نیتروژن توسط مونوسیت‌ها استفاده شد. سطح نیتریک اکساید تولیدی در گروه مونوسیت‌های شاهد ۰/۴۳±۷۲/۲۷ میکرومول در لیتر و در مونوسیت‌های گروه تیمار ۰۱/۴۸±۴۰/۰ میکرومول در لیتر بود. بر اساس تجزیه‌وتحلیل آماری مشخص گردید که تیمار دوپامینی سلول‌های مونوسیت به کاهش معنی‌دار شدت تولید رادیکال‌های آزاد نیتروژن منجر شده است (نمودار شمارهٔ ۴. ب).



نمودار شماره ٤. ارزیابی شدت انفجار تنفسی (الف) و تولید نیتریک اکساید (ب) پس از برداشت مخمر اپسونیزه توسط مونوسیت‌ها (MO) پس از تیمار ۲۴ ساعته با دوپامین (۷-۱۰×۵ مولار).* نشانهٔ اختلاف معنی‌دار در سطح $P<0.05$ نسبت به گروه مونوسیت‌های تیمارنشده است.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

ارزیابی تیمار دوپامین بر بیان NF-κB در مونوسیت‌ها: NF-κB از مهم‌ترین عامل‌های نسخه‌برداری است که به دنبال برداشت اجرام اپسونیزه در سلول‌های فاگوسیت‌کننده فعال می‌شود. بر اساس یافته‌های این پژوهش، نسبت بیان NFkB/GAP در مونوسیت‌های شاهد ۱/۱۶±۰/۷۱ و در مونوسیت‌های گروه تیمار ۰/۶۹±۰/۱۱ بود. تجزیه‌وتحلیل آماری نتایج Real-Time PCR نشان داد که تیمار با دوپامین در حداکثر غلظت فیزیولوژیک به مدت ۲۴ ساعت، به کاهش معنی‌دار بیان NF-κB در مونوسیت‌ها منجر شده است (نمودار شمارهٔ ۵).



نمودار شماره ۵. ارزیابی میزان بیان NF-κB توسط مونوسیت‌ها (MO) پس از تیمار ۲۴ ساعته با دوپامین (۷-۱۰×۵ مولار). محصولات RT-PCR حاصل از رنگ‌آمیزی DNA Safe Stain. نمونه‌های تیمارشده و تیمارنشده (GAPDH، تصویر الف و NF-κB، تصویر ب بارگذاری‌شده در ژل یکسان، تحت شرایط برابر بررسی و با یکدیگر مقایسه شدند و تصاویر تجزیه‌وتحلیل گردید. نتایج آن نیز در تصویر ج نشان داده‌شده است.* نشانهٔ اختلاف معنی‌دار در سطح $P<0.05$ نسبت به گروه مونوسیت‌های تیمارنشده است.

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های کنونی، در عقده‌های لنفاوی پایانه‌های عصبی آدرنرژیک که در ارتباط با سلول‌های ایمنی قرار می‌گیرند، قادر به تولید دوپامین هستند. از سویی، نشان داده‌شده است که سلول‌های ایمنی از قبیل لنفوسیت‌های Treg برخی از لنفوسیت‌های B، DCs، نوتروفیل‌ها، مونوسیت‌ها و ماست‌سل‌ها در شرایط فیزیولوژیک قادر به تولید دوپامین هستند (۱۶). گزارش‌شده است که انتقال پیام توسط گیرنده‌های دوپامین با میل ترکیبی کم، ازجمله DR1 و DR2، برای متوقف کردن فرایندهای التهابی سلول‌های ایمنی ذاتی و درنتیجه، تضعیف سلول‌های ایمنی ذاتی همراه هستند(۱۷). برعکس، تحریک گیرنده‌های دوپامینی با میل ترکیبی بالا مانند DR3 و DR5 موجب تقویت التهاب و پاسخ ایمنی شده است (۱۸، ۱۷). بر اساس تحقیقات صورت‌گرفته، در شرایط فیزیولوژیک حداکثر غلظت دوپامینی که سلول‌های ایمنی با آن مجاور می‌شوند، در حد ۷-۱۰×۵ مولار است (۱۱، ۱۰).

در این مطالعه سعی شده است که به بررسی آثار دوپامینی بر عملکردهای پایه و فیزیولوژیک سلول‌های مونوسیت در شرایط غلظت حداکثری دوپامین پرداخته شود که در شرایط فیزیولوژیک گزارش‌شده است.

بر اساس مطالعات مک‌کینا و همکاران، مونوسیت‌های انسان حاوی غلظت بالایی از گیرنده‌های دوپامینی D2R و D3R در مقایسه با گیرنده‌های دوپامینی D4R و D5R است (۱۱). دربارهٔ تأثیر دوپامین بر مونوسیت‌ها گزارش‌های اندکی وجود دارد. مونوسیت‌های CD14+ ساکن در خون محیطی تنها گیرندهٔ دوپامینی DRD4 را بیان می‌کنند (۱۹)؛ همچنین مونوسیت‌های CD14+ خون محیطی انسان و ردهٔ سلولی U937 (پری‌مونوسیت‌ها) حاوی دوپامین، اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین داخل سلولی هستند. مونوسیت‌های CD14+ همچنین شامل تعدادی متابولیت‌ها از قبیل MT۳، DHPG وMET هستند (۱۹)؛ بااین‌حال، با مراجعه به منابع مختلف به‌نظر می‌رسد که بیشتر داده‌های موجود مربوط به

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

تأثیر دوپامین بر روی سلول‌های ماکروفاژ است.

بر اساس مطالعات گذشته به‌نظر می‌رسد که دوپامین فنوتیپ و عملکرد مونوسیت‌ها/ماکروفاژها را تنظیم می‌کند. در مطالعات in vitro بر روی ماکروفاژهای جوجه نشان داده‌شده که غلظت بالای دوپامین (5 µg/mL) سمی است، به‌طوری‌که ۵۳ درصد از سلول‌های تحت تیمار دچار مرگ شدند. انکوباسیون با دوپامین در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به مدت یک ساعت، فعالیت فاگوسیتی ماکروفاژها را افزایش داده است؛ بااین‌حال، اگر ماکروفاژها به مدت ۳ ساعت در معرض همین غلظت‌های دوپامین باشند، فعالیت فاگوسیتی آن‌ها کاهش معنی‌داری خواهد یافت (۲۰) . هاسک‌او و همکاران نشان دادند، در ماکروفاژ صفاقی فعال‌شده با گیرندهٔ دوپامینی D2R توسط آگونیست‌های (بروموکریپتین و کوینپیرول)، ترشح نیتریک‌اکساید و TNF-α کاهش می‌یابد؛ همچنین تحریک گیرندهٔ دوپامینی D1R در مقایسه با کنترل، به کاهش تولید نیتریک‌اکساید توسط ماکروفاژها منجر گردیده است (۲۱). گزارش‌شده است که بیان گیرنده‌های Fcγ و کمپلمان در ماکروفاژهای خوکچهٔ هندی افزایش‌یافته است که به مدت هفت روز، تحت تیمار با آگونیست‌های دوپامینی (بروموکریپتین، لئوپرولید و پرگولید) یا آنتاگونیست‌های دوپامین (کلرپرومازین، SCH23390، متوکلوپرامید، سولپیرید، ورالیپرید، آلیزاپرید و سیزاپرید) بودند (۲۲).

نتایج ما نیز حاکی از کاهش برخی از فعالیت اصلی منوسیت‌ها پس از تیمار با دوپامین شامل قدرت اندوسیتوز، کشتار مخمر اپسونیزه، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن بود، درحالی‌که قابلیت فاگوسیتوز مخمر اپسونیزه توسط مونوسیت‌ها پس از تیمار با دوپامین تغییر معنی‌داری نیافت. فرایند حذف یک عامل پاتوژن توسط مونوسیت شامل مراحل برداشت، به درون کشیده شدن (فاگوسیتوز)، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن، فعالیت آنزیم‌های لیزوزومی و حذف سلول است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، شدت فاگوسیتوز مخمر اپسونیزه میان دو گروه مونوسیت‌های تیمارشده و بدون تیمار تفاوت معناداری را نشان نداد. برداشت یک عامل اپسونیزه توسط یک سلول فاگوسیتیک از طریق گیرنده‌های متعددی از قبیل گیرندهٔ اپسونیک و غیراپسونیک القا می‌گردد؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد، با وجود اینکه آزمایش نوترال رد که تا حدودی برای برخی از قابلیت‌های غشایی است، کاهش‌یافته است، سیگنال‌های حاصل از گیرنده‌های اپسونیک و غیراپسونیک بر این کاهش فعالیت غشایی در حضور دوپامین غلبه کرده و قابلیت فاگوسیتوز در حضور دوپامین تغییر معنی‌داری نیافته است. تحقیقات اخیر نیز حاکی از افزایش چشمگیر گیرنده‌های اپسونیک توسط ماکروفاژها در شرایط درون‌تنی یا برون‌تنی پس از تحریک آگونیست‌های دوپامینی بوده است (۲۲). گفتنی است، اپسونیزه شدن و برداشت (فاگوسیتوز) سریع در کنار مهار روند انفجار تنفسی یا تولید واسطه‌های نیتراتیو (نیتریک‌اکساید) راهکار اصلی عوامل موجد عفونت‌های داخلی سلولی مانند عامل سل است (۹).

پس از برداشت یک پاتوژن، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن لازمهٔ حذف مؤثر آن است. بر اساس نتایج این پژوهش، تیمار دوپامینی به کاهش چشمگیر شدت تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن در منوسیت‌ها منجر شده است. هرچند که تولید رادیکال‌های اکسیژن و نیتروژن برای حذف عامل پاتوژن لازم و مؤثر است، درصورتی‌که تولید این رادیکال‌ها به‌صورت لجام‌گسیخته و نابجا صورت گیرد، به ایجاد شرایط ایمونوپاتولوژیک و آسیب بافتی منجر می‌گردد (۱۳)؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد که یکی از وظایف اصلی دوپامین در دستگاه ایمنی کاهش یا تعدیل تولید واسطه‌های بالقوهٔ آسیب‌رسان اکسیژن و نیتروژن باشد. همسو با این امر، تحقیقات پیشین به‌خوبی نشان داده است که در شرایط بالینی نیز در تغییر سطح دوپامین بر وضعیت التهاب مؤثر است؛ به‌طور مثال، سطح دوپامین در افراد افسرده کاهش چشمگیری می‌یابد (۲). مطالعات گذشته به‌خوبی نشان داده است که شیوع بیماری خودالتهابی و خودایمنی که ممکن است ناشی از آسیب‌های رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن باشد، در افراد افسرده به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابد (۲۳)؛ همچنین در شرایط شوک از قبیل شوک آندوتوکسیک، استفاده از

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

آنالوگ‌های دوپامین به‌عنوان بخشی از برنامهٔ حفظ فشارخون مرسوم است. در ابتدا، تنها فایدهٔ این آنالوگ‌ها را افزایش خون‌رسانی به ارگان‌های حیاتی ذکر می‌کردند؛ اما امروزه مشخص‌شده است که لااقل بخشی از فواید این داروها در شرایط شوک به علت مهار التهاب و کاهش کموتاکسی سلول‌های ایمنی است (۲۴). از سویی، نتایج مطالعهٔ ما نشان داد که در کنار کاهش قابلیت تولید رادیکال‌های آزاد، میزان کشتار مخمر نیز کاهش می‌یابد؛ بنابراین می‌توان حدس زد در شرایطی که احتمال افزایش بیش‌ازحد سطح دوپامین وجود دارد (از قبیل شرایط افراد مجنون)، ممکن است به تشدید عفونت و خطرات ناشی از آن منجر گردد. هرچند تاکنون تحقیق خاص و یا گزارشی دربارهٔ تأثیر افزایش سطح دوپامین بر روی احتمال تشدید بیماری‌های عفونی صورت نگرفته است؛ بااین‌حال، بر اساس نتایج، این فرضیه مطرح می‌گردد که در حین استفاده از آگونیست‌های دوپامین در شرایط به‌ویژه شوک عفونی، دقت بیشتری به عمل آید؛ زیرا که ممکن است استفاده از دوپامین به تشدید عفونت به علت مهار قابلیت‌های دستگاه ایمنی در حذف عامل عفونی منجر گردد، هرچند این مسئله تنها در حد فرضیه است و لازم است تحقیقات بیشتر صورت گیرد.

NF-κB پروتئین هترودایمری است که در سیتوپلاسم سلول‌های در حال استراحت به‌صورت کمپلکس با پروتئین مهاری IKB حضور دارد (۲۶، ۲۵). پس از فعال شدن مسیرهای پیام‌رسانی به علت تحریک مونوسیت‌ها با اجزای عوامل عفونی، IKB جداشده و NF-κB آزادشده به هستهٔ سلول منتقل می‌شود. در هسته، این عامل نقش بسیار مهمی در القای تولید سایتوکاین‌ها و کموکاین‌های التهابی و همچنین تولید واسطه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن بازی می‌کند. به‌سبب نقش گستردهٔ این عامل در فعالیت دستگاه ایمنی به‌عنوان واسط مرکزی پاسخ‌های ایمنی نامیده شده است (۲۶). در یک تحقیق جالب، به میزان تغییر اتصال NF-κB به DNA در مونوسیت‌های استحصالی از خون محیطی انسان و یا رده‌های سلول مونوسیت انسان اشاره‌شده است که با LPS (ng/ml10) فعال گردیده بودند. بر اساس نتایج آنان مشخص‌شده است که دوپامین فعال‌سازی NF-κB به‌واسطهٔ LPSو همچنین اتصال NF-κB به پروموتور TNF-α به‌واسطهٔ تحریک با LPS را مهار می‌کند؛ بنابراین، محققان نتیجه‌گیری کردند که دوپامین موجب مهار فعال شدن و جابه‌جا شدن NF-κB از سیتوپلاسم به هستهٔ سلول‌های مونوسیت می‌شود (۵). نتایج ما نیز نشان داد که همسو با تغییر سطح فعالیت سلول‌های مونوسیت در تولید واسطه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن، تیمار دوپامینی به مدت ۲۴ ساعت در حداکثر غلظت فیزیولوژیک، به کاهش معنی‌دار بیان NF-κB به‌عنوان یکی از عوامل اثرگذار در تولید واسطه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن منجر می‌گردد.

تحقیقات گذشته نشان داده‌اند که دوپامین به‌وسیلهٔ اتصال به گیرنده‌هایش آثار ضدالتهابی دارد. به دنبال استفاده از ردهٔ سلولی J774.1 و یا استفاده از ماکروفاژهای صفاقی موش C57B1/6 که با LPS (ng/ml10) و دوپامین (μM 01/0 -100 μM) تحریک‌شده بودند، آنان مشاهده کردند که بیان mRNA مربوط به IL-12 p40 و همچنین ترشح آن به‌صورت وابسته به غلظت کاهش یافت، درحالی‌که ترشح IL-10 افزایش‌یافته بود (۲۱). گزارش دیگری نشان داد که دوپامین ترشح سایتوکاین‌های ضدالتهابی در ماکروفاژهای نشئت‌گرفته از مونوسیت انسانی را با و یا بدون تحریک LPS تحریک می‌کند. ماکروفاژهای نشئت‌گرفته از مونوسیت انسانی فعال‌شده با LPS که با غلظت بالای دوپامین (2 μM و 20 μM) تحریک‌شده بودند، ترشح IL-10 را افزایش دادند، درحالی‌که ترشح TNF-α در آن‌ها کاهش یافت. در مقابل، غلظت پایین دوپامین (20 nM و 200 nM) به‌طور ناچیزی، تنها بر ترشح TNF-α و تنظیم مثبت IL-10 تأثیر می‌گذارد (۲۷).

در آزمایش MTT قابلیت‌های حیاتی سلول‌ها سنجیده می‌شود. مادهٔ MTT پس از برداشته شدن توسط سلول‌های فاگوسیت‌کننده به دنبال رخداد فرایند تنفس سلولی در میتوکندری‌ها تبدیل به کریستال‌های فورمازان می‌گردد (۱۳)؛ بنابراین، هرچقدر که سطح فعالیت متابولیک سلول‌ها افزایش یابد، میزان احیایMTT به کریستال‌های فورمازان افزایش خواهد یافت. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

تحقیق به‌نظر می‌رسد، تیمار با دوپامین برخی از عملکردهای فیزیولوژیک مونوسیت‌ها را کاهش می‌دهد؛ اما این کاهش‌ها با توجه به تغییر نکردن قدرت حیاتی سلول‌های مونوسیت به دنبال تیمار دوپامین، مربوط به یک فعالیت مهارکنندهٔ کلی یا ساده نیست، بلکه با توجه به تغییر نکردن معنی‌دار شدت احیای MTT به کریستال‌های فورمازان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که دوپامین عمدتاً باعث تغییر برنامه‌ریزی و نه مهار سلول‌های مونوسیت می‌گردد.

رنگ نوترال رد رنگی کاتیونی است که به‌صورت غیراپسونیک توسط سلول‌های فاگوسیت‌کننده اندوسیتوز می‌شود. رنگ نوترال رد پس از برداشته شدن در بخش لیزوزومی سلول‌های فاگوسیت‌کننده تغلیظ می‌گردد، به‌طوری‌که میزان برداشت نوترال رد به برخی از عملکردهای سلولی ازجمله قابلیت‌های غشایی، یکپارچگی غشایی و فعالیت بخش لیزوزومی بستگی دارد (۱۴). البته مطابق نتایج ما به‌نظر می‌رسد که تیمار با دوپامین به کاهش برداشته شدن و تغلیظ نوترال رد در لیزوزوم سلول‌های مونوسیت منجر شده است؛ بااین‌حال، بر اساس آزمایش MTT به‌نظر نمی‌رسد که قدرت حیاتی سلول‌ها تغییر معنی‌داری یافته باشد؛ بنابراین، کاهش برداشت نوترال رد در نتایج ما عمدتاً مرتبط با تغییر قابلیت‌های غشایی و همچنین تغییر فعالیت بخش لیزوزومی مونوسیت‌ها خواهد بود. همسو با آن، نتایج آزمایش مخمرکشی پژوهش حاضر نیز حاکی از کاهش میزان کشتار مخمرها پس به دنبال تیمار با دوپامین بود. حذف یک پاتوژن نیازمند عوامل لیزوزومی و همچنین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن است که نتایج ما حاکی از کاهش سطح تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن در کنار کاهش فعالیت بخش لیزوزومی بود.

بر اساس دانسته‌های کنونی به‌نظر می‌رسد که سلول‌های مونوسیت پس از مهاجرت آن‌ها به بافت (ماکروفاژها و سلول‌های دندرتیک)، بر اساس ریز محیط اطرافی چندین فنوتیپ مختلف را پیدا می‌کنند (۲۹، ۲۸)؛ به‌طور مثال، نشان داده‌شده است که مونوسیت‌ها پس از مهاجرت به بافت، بسته به شرایط، قادر به تبدیل به حداقل دو نوع ماکروفاژ هستند. در کنار ریز محیط بافتی که مونوسیت‌ها به آن وارد شده‌اند، وضعیت خود مونوسیت‌ها پیش از ورود به بافت نیز بر نوع فنوتیپی مؤثر است که پس از تبدیل به ماکروفاژ پیدا می‌کنند. این فنوتیپ‌ها از لحاظ سایتوکاین‌ها، کموکاین‌ها، گیرنده‌های لیگاند و عملکرد با یکدیگر متفاوت‌اند. ماکروفاژهای کلاسیک یا M1 گروهی از ماکروفاژها با خاصیت ضدمیکروبی و التهابی قوی هستند که در پاتوژنز بیماری‌های التهابی و خودایمن نقش فعالی را بازی می‌کنند (۲۹). ماکروفاژهای M2 یا ماکروفاژهای فعال‌شده از مسیر آلترناتیو (جایگزین) به میزان کمتری از سایتوکاین‌های التهابی را نسبت به ماکروفاژهای M1تولید می‌کنند و در مقابل، نقش مهمی را در بازسازی و ترمیم آسیب‌های بافتی ایجاد می‌نمایند. این سلول‌ها نسبت به ماکروفاژهای M1 قابلیت میکروب‌کشی به‌مراتب کمتری دارند (۲۹). بر اساس نتایج تحقیق ما به‌نظر می‌رسد که دوپامین به علت کاهش میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن و همچنین کاهش قابلیت کشتار، احتمالاً سلول‌های مونوسیت را به‌سوی فنوتیپ ضدالتهابی با قابلیت تبدیل به ماکروفاژهای M2 برنامه‌ریزی می‌کند. درهرحال، این مسئله نیازمند مطالعات بیشتر است.

البته ذکر این نکته اساسی است که تغییر نکردن میزان فعالیت زیستی که در این تحقیق در رابطه با مونوسیت‌های تیمارشده با دوپامین دیده شد، حاکی از القای پویای یک فنوتیپ ضدالتهابی و نه مهار سادهٔ فعالیت این سلول‌ها توسط دوپامین است؛ همچنین تغییر نکردن قابلیت فاگوسیتوز در کنار کاهش تولید رادیکال‌های آزاد در سلول‌های مونوسیت تیمارشده با دوپامین نسبت به گروه شاهد نیز، تأییدی بر تغییر در برنامه‌ریزی و پلاریزه شدن سلول‌های مونوسیت‌ها پس از مجاورت با دوپامین است.

در کل به‌نظر می‌رسد که دوپامین به‌طور پویا موجب ایجاد یک رخ‌نمود ضدالتهابی در سلول‌های مونوسیت می‌گردد، به‌طوری‌که این مونوسیت‌ها در کنار کاهش فعالیت بخش لیزوزومی، میزان کمتری از رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن را تولید می‌کنند. این مسئله، یعنی کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، در شرایط ایمونوپاتولوژیک از

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

قبیل بیماری‌های خودایمن امر مطلوبی به‌شمار می‌آید. البته کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن و همچنین کاهش عملکرد لیزوزومی در شرایط بیماری‌های عفونی ممکن است به گسترش عفونت کمک کند. همسو با این مطلب، نتایج ما حاکی از کاهش قابلیت مخمرکشی سلول‌های مونوسیت استحصالی از رت‌های تحت تیمار با دوپامین در مقایسه با رت‌های شاهد بود؛ بنابراین، لازم است که در حین استفاده از آگونیست‌ها و یا آنتاگونیست‌های دوپامینی در بیماران مختلف به این مسائل نیز توجه شود.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌نمایند که هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

کد اخلاق

همهٔ مراحل این تحقیق در کمیتهٔ اخلاق پژوهش دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه ارومیه با کد IR-UU-AEC-3-1530-DA تصویب‌شده است.

حمایت مالی

از این پژوهش توسط معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه ، حمایت مالی به عمل آمده است.

مشارکت نویسندگان

دکتر سید میثم ابطحی فروشانی طرح اولیه مطالعه را مطرح و راهنمایی آن را بر عهده داشتند، اجرا ی مطالعه و نوشتن متن اولیه مقاله توسط خانم دکتر هانیه نیک خواه ، آنالیزهای آمار ی توسط دکتر دکتر سید میثم ابطحی فروشانی و مشاوره علمی و کمک به انجام بهتر این طرح توسط آقای دکتر دستمالچی ساعی و خانم دکتر ناهیده افضل آهنگران انجام شد. متن نهایی با همکاری همه محققین تهیه شد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

References

1. Jahangiri S, Abtahi Froushani SM, Delirezh N. Combination immunotherapy with extract of heated 4T1 and naloxone in mouse model of breast cancer. Turk J Med Sci 2016;46:518-23. doi: 10.3906/sag-1410-61.
2. Mohammadi A, Abtahi Froushani SM, DelireZh N, Ownagh A. Alum and metoclopramide synergistically enhance cellular and humoral immunity after immunization with heat-killed Salmonella typhimurium vaccine. Int Immunopharmacol 2021; 101:108185. doi: 10.1016/j.intimp.2021.108185.
3. Arias-Carrión O, Stamelou M, Murillo-Rodríguez E, Menéndez-González M, Pöppel E. Dopaminergic reward system: a short integrative review. Int Arch Med 2010; 3:24. doi: 10.1186/1755-7682-3-24.
4. Franco R, Reyes-Resina I, Navarro G. Dopamine in Health and Disease: Much More Than a Neurotransmitter. Biomedicines 2021;9:109. doi: 10.3390/biomedicines9020109.
5. Arreola R, Alvarez-Herrera S, Pérez-Sánchez G, Becerril-Villanueva E, Cruz-Fuentes C, Flores-Gutierrez EO, et al. Immunomodulatory Effects Mediated by Dopamine. J Immunol Res 2016; 2016:3160486. doi: 10.1155/2016/3160486.
6. Papa I, Saliba D, Ponzoni M, Bustamante S, Canete PF, Gonzalez-Figueroa P, et al. T(FH)-derived dopamine accelerates productive synapses in germinal centres. Nature 2017;547:318-23. doi: 10.1038/nature23013.
7. Nourmohammadi K, Babaei-Balderlou F, Abtahi-Foroushani SM. Dopamine D2 Receptor Antagonist Alters the Testosterone Release and Kisspeptin/GPR54 Signaling in Food-Restricted Rats. Iran J Sci Technol Trans Sci 2021;45:1879-86. doi:10.1007/s40995-021-01196-z.
8. Ehrchen JM, Roth J, Barczyk-Kahlert K. More Than Suppression: Glucocorticoid Action on Monocytes and Macrophages. Front Immunol 2019; 10:2028. doi: 10.3389/fimmu.2019.02028.
9. Esmaili Gourvarchin Galeh H, Meysam Abtahi Froushani S, Afzale Ahangaran N, Hadai SN. Effects of Educated Monocytes with Xenogeneic Mesenchymal Stem Cell-Derived Conditioned Medium in a Mouse Model of Chronic Asthma. Immunol Invest 2018;47:504-20. doi: 10.1080/08820139.2018.
10. Torres KC, Antonelli LR, Souza AL, Teixeira MM, Dutra WO, Gollob KJ. Norepinephrine, dopamine and dexamethasone modulate discrete leukocyte subpopulations and cytokine profiles from human PBMC. J Neuroimmunol 2005;166:144-57. doi: 10.1016/j.jneuroim.2005.06.006.
11. McKenna F, McLaughlin PJ, Lewis BJ, Sibbring GC, Cummerson JA, Bowen-Jones D, et al. Dopamine receptor expression on human T- and B-lymphocytes, monocytes, neutrophils, eosinophils and NK cells: a flow cytometric study. J Neuroimmunol 2002;132:34-40. doi: 10.1016/s0165-5728(02)00280-1.
12. Scriba A, Luciano L, Steiniger B. High-yield purification of rat monocytes by combined density gradient and immunomagnetic separation. J Immunol Methods 1996;189:203-16. doi: 10.1016/0022-1759(95)00248-0.
13. Abtahi Froushani SM, Abbasi A. Conditioned Medium of Mesenchymal Stem Cells Pulsed with Theobromine Can Instruct Anti-Inflammatory Neutrophils. Zahedan J Res Med Sci 2020;22:e86967. doi:10.5812/zjrms.86967.
14. Shushtari N, Abtahi Froushani SM. Caffeine Augments the Instruction of Anti-Inflammatory Macrophages by The Conditioned Medium of Mesenchymal Stem Cells. Cell J 2017;19:415-24. doi: 10.22074/cellj.2017.4364.
15. Fijalkowski K, Czernomysy-Furowicz D, Irwin JA, Nawrotek P, Pobucewicz A. Secretory virulence factors produced by Staphylococcus aureus isolates obtained from mastitic bovine milk--effect on bovine polymorphonuclear neutrophils. Res Vet Sci 2012;93:82-7. doi: 10.1016/j.rvsc.2011.08.017.
16. Pacheco R, Riquelme E, Kalergis AM. Emerging evidence for the role of neurotransmitters in the modulation of T cell responses to cognate ligands. Cent Nerv Syst Agents Med Chem 2010;10:65-83. doi: 10.2174/187152410790780154.
17. Pacheco R. Targeting dopamine receptor D3 signalling in inflammation. Oncotarget 2017;8:7224-5. doi: 10.18632/oncotarget.14601.
18. Contreras F, Prado C, González H, Franz D, Osorio-Barrios F, Osorio F, et al. Dopamine Receptor D3 Signaling on CD4+ T Cells Favors Th1- and Th17-Mediated Immunity. J Immunol 2016;196:4143-9. doi: 10.4049/jimmunol.1502420.
19. Cosentino M, Bombelli R, Ferrari M, Marino F, Rasini E, Maestroni GJ, et al. HPLC-ED measurement of endogenous catecholamines in human immune cells and hematopoietic cell lines. Life Sci 2000;68:283-95. doi: 10.1016/s0024-3205(00)00937-1.
20. Arreola R, Alvarez-Herrera S, Pérez-Sánchez G, Becerril-Villanueva E, Cruz-Fuentes C,

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

Flores-Gutierrez EO, et al. Immunomodulatory Effects Mediated by Dopamine. J Immunol Res 2016; 2016:3160486. doi: 10.1155/2016/3160486.
21. Haskó G, Szabó C, Németh ZH, Deitch EA. Dopamine suppresses IL-12 p40 production by lipopolysaccharide-stimulated macrophages via a β-adrenoceptor-mediated mechanism. J Neuroimmunol 2002;122:34-9. doi: 10.1016/s0165-5728(01)00459-3.
22. Nolan RA, Muir R, Runner K, Haddad EK, Gaskill PJ. Role of Macrophage Dopamine Receptors in Mediating Cytokine Production: Implications for Neuroinflammation in the Context of HIV-Associated Neurocognitive Disorders. J Neuroimmune Pharmacol 2019;14:134-56. doi: 10.1007/s11481-018-9825-2.
23. Dale RC, Merheb V, Pillai S, Wang D, Cantrill L, Murphy TK, et al. Antibodies to surface dopamine-2 receptor in autoimmune movement and psychiatric disorders. Brain 2012;135:3453-68. doi: 10.1093/brain/aws256.
24. Beck G, Brinkkoetter P, Hanusch C, Schulte J, van Ackern K, van der Woude FJ, et al. Clinical review: immunomodulatory effects of dopamine in general inflammation. Crit Care 2004;8:485-91. doi: 10.1186/cc2879.
25. Gilmore TD. Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. Oncogene 2006;25:6680-4. doi: 10.1038/sj.onc.1209954.
26. Albensi BC. What Is Nuclear Factor Kappa B (NF-κB) Doing in and to the Mitochondrion? Front Cell Dev Biol 2019; 7:154. doi: 10.3389/fcell.2019.00154.
27. Gaskill PJ, Carvallo L, Eugenin EA, Berman JW. Characterization and function of the human macrophage dopaminergic system: implications for CNS disease and drug abuse. J Neuroinflammation 2012; 9:203. doi: 10.1186/1742-2094-9-203.
28. Cutolo M, Campitiello R, Gotelli E, Soldano S. The Role of M1/M2 Macrophage Polarization in Rheumatoid Arthritis Synovitis. Front Immunol 2022; 13:867260. doi: 10.3389/fimmu.2024.1394108.
29. Bart VMT, Pickering RJ, Taylor PR, Ipseiz N. Macrophage reprogramming for therapy. Immunology 2021;163:128-44. doi: 10.1111/imm.13300.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]