Research on Medicine Original Article

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences Vol.43; No.1; 2019

Particulate matter effects on peritoneal macrophages inflammatory function in C57BL/6 mice

Hoda Rahmani[1], Somayeh Sadeghi[1], Mohsen Roshani[2], Davar Amani[1], Tooba Ghazanfari[3], Nariman Mosafa[1*]

1. Department of Immunology, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Tehran air quality standard agency, Tehran, Iran
3. Response Center for Safety Response Center, Shahed University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 2018/09/5 Accept: 2018/12/23)

Abstract

Background: *Urban air pollution represents a challenge in Tehran. Health care organs and physicians pay much attention because of health effect on mankind. Nowadays, a majority of air pollution related articles focus on particulate matter adverse effects on human health. Epidemiologic studies show the direct correlation between ambient particulate matter and risk of respiratory system and cardiovascular disease. However, little attention has been given to the effects of air pollution on the gastrointestinal system. Emergency system visit increases on polluted days. Recent studies have shown high incidence of susceptibility to inflammatory bowel diseases (IBD), appendicitis, and colorectal cancer in the polluted areas.*

Materials and Methods: *We investigated the effect of Particulate matter in two aerodynamic diameters (PM2.5 and PM10) on peritoneal immune system cells. PM filters of different stations were purchased from Tehran Air Quality Standard Agency. After harvesting the particles from corresponding filters, the PMs were cultured with C57BL/6 inbred mice peritoneal macrophages. MTT test was performed to define the stimulatory and toxic effects of PMs on macrophages.*

Results: *The results of MTT test showed stimulation of macrophages by PMs. PM2.5 was more potent in increasing MTT test absorbance. Also, both particles stimulated macrophages in 10µg/ml concentration in comparison to 5 µg/ml concentration.*

Conclusion: *These results show particles stimulate macrophages and this stimulation can result in production of inflammatory cytokines and other macrophage function. In further studies, we will continue our investigation by evaluating PM effects on producing cytokines and gene expression.*

Keywords: *Immune system; Macrophage; Peritoneal; Suspended particles of air pollution*

**Corresponding author:Nariman Mosafa*
Email: mosaffan@sbmu.ac.ir

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-02]

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دور ۴۳، شماره ۱، ۱۳۹۸، صفحات ۱ تا ۷

بررسی اثر التهابی ذرات معلق هوای شهر تهران با قطر 2.5 و 10 میکرومتر بر حیات سلول‌های ماکروفاژی صفاق موش نژاد C57BL/6

هدی رحمانی[۱]، سمیه صادقی[۱]، محسن روشنی[۲]، داور امانی[۱]، طوبی غضنفری[۳]، نریمان مصفا[۱*]

۱- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲- شرکت کنترل کیفیت هوای شهر تهران، ایران
۳- مرکز تنظیم پاسخ‌های ایمنی، دانشگاه علوم پزشکی شاهد، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۶/۱۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۱۰/۲

چکیده:

سابقه و هدف: آلودگی هوای شهر تهران یک معضل ملی محسوب می‌شود و با توجه به آثار سوء بر سلامتی انسان، مورد توجه پزشکان و افراد فعال در حوزه سلامت قرار گرفته است. با افزایش روزافزون ذرات معلق جامد (*PM*)، در شهرهای بزرگ و آلوده صنعتی بسیاری از مطالعه‌ها به بررسی اثر این ذرات بر سلامتی انسان متمرکز شده است. مطالعه‌های اپیدمیولوژیک ارتباط افزایش غلظت ذرات معلق و افزایش بیماری‌های تنفسی و قلبی- عروقی و مرگ و میر ناشی از آن را نشان می‌دهد. در مقایسه با آثار مخرب این ذرات بر دستگاه تنفسی، کمتر به بررسی آثار آن در سیستم گوارش پرداخته شده است. در حالی که گزارش‌های مبنی بر افزایش مراجعه به اورژانس به دلیل دردهای شکمی و تهوع در روزهایی که آلودگی هوا بیشتر است، وجود دارد. علاوه بر این بروز بیماری‌های گوارشی از قبیل التهاب آپاندیس، سرطان‌های کولورکتال و سندرم روده تحریک پذیر در نواحی آلوده صنعتی بیشتر است.

مواد و روش‌ها: ما در این مطالعه تجربی به اثر ذرات با قطر ایرودینامیک کمتر از ۲٫۵ میکرون و ذرات با قطر کمتر از ۱۰ میکرون بر سلول‌های سیستم ایمنی محوطه صفاقی- شکمی در مدل موشی تجربی پرداختیم. به این منظور از فیلترهای جمع‌آوری *PM*۲٫۵ و *PM*۱۰ مربوط به ایستگاه‌های مختلف از شرکت کنترل کیفیت هوای شهر تهران استفاده شد تا ذرات معلق از آن‌ها استحصال شود. ذرات معلق بر ماکروفاژهای پریتونئال موش نژاد *C۵۷BL/۶* اثر داده شد. توسط آزمون بررسی حیات سلولی(*MTT*) میزان فعالیت حیاتی سلول‌ها اندازه گیری شد.

یافته‌ها: ذرات معلق با قطر ۱۰میکرون، پس از ۲۴ ساعت تیمار، در غلظت ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل توجهی فعالیت حیاتی ماکروفاژهای پریتونئال را افزایش داده است(*P =0.00*). بیشترین میزان افزایش فعالیت حیاتی ماکروفاژهای پریتونئال مربوط به *PM 2.5* با غلظت ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود(*P =0.00*). میزان فعالیت حیاتی ماکروفاژهای پریتونئال تیمار شده با غلظت‌های ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر در دو سایز ذرات با قطر ۲٫۵ میکرون و ۱۰ میکرون نیز نسبت به گروه کنترل افزایش یافت اما فقط در مورد ذرات *PM10* از نظر آماری معنادار بود(*P <0.05*)

نتیجه‌گیری: ذرات معلق هوای شهر تهران در مقایسه با گزارش‌هایی که از سایر پژوهش‌های مشابه در دست است سبب تحریک فعالیت حیاتی ماکروفاژها شدکه می‌تواند ناشی از افزایش تولید سایتوکاین‌های التهابی و القای فنوتیپ التهابی در این سلول‌ها باشد. از این رو می‌توان دلیل بسیاری از عوارض بالینی ناشی از تماس با ذرات معلق در انسان را با این پدیده مرتبط دانست. بررسی چگونگی وقوع این فعالیت در زمینه تولید سیتوکاین‌های التهابی، مکانیسم‌های تاثیر آن‌ها را برسلول‌های دفاعی مشخص می کند.

واژگان کلیدی: سیستم ایمنی، ماکروفاژ، پریتونئال، ذرات معلق آلودگی هوا

مقدمه:

امروزه آلودگی هوا یک معضل جهانی محسوب می‌شود. مهم‌ترین عامل آلودگی هوای شهری احتراق سوخت‌های فسیلی ناشی از مصارف انسانی، کارخانجات و ماشین‌هاست(۱). ذرات معلق آلودگی هوا1(PM)، ترکیبی از ذرات جامد و قطرات مایع هستند که به مدت طولانی در هوا حضور دارند. ذرات معلق در ساختار خود دارای مولکول‌های ارگانیک، فلزات، مشتقات گازی فعال، ترکیبات و فرآورده‌های میکروبی و معدنی هستند و ازطرفی به عنوان حامل نیز برای مولکول‌های بالقوه خطرناک عمل می‌کنند(۲). ذرات معلق از نظر سایز متفاوتند و بر اساس قطر ایرودینامیک در سه گروه کلی دسته‌بندی می‌شوند. پارتیکل‌های زبر و خشن یا PM10 ها ذراتی هستند که قطر ایرودینامیک کمتر از ۱۰ میکرون دارند. ذرات با قطر ایرودینامیک کمتر از ۲٫۵ میکرون در دسته پارتیکل‌های نرم یا PM2.5 قرار می‌گیرند و نانوپارتیکل‌ها، پارتیکل‌هایی با قطر ایرودینامیک کمتر از 0.1 میکرون هستند که با عناوین پارتیکل‌های بسیار نرم و PM0.1 نیز خوانده می‌شوند. دسته‌بندی فوق پارتیکل‌هایی که برای سلامت انسان آسیب‌رسان هستند را شامل می‌شود(۳،۴)

در مقایسه با سایر عوامل ایجاد کننده آلودگی هوا از جمله مونواکسید کربن و ازن، آثار مخرب ذرات معلق بیشتر است. سالانه، ۴۰۰ هزار تا دو میلیون مرگ و میر

1 Particulate matter

نویسنده مسئول: نریمان مصفا
پست الکترونیک: *mosaffan@sbmu.ac.ir*

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-02]

ناشی از ذرات معلق آلودگی هوا و ازن ثبت می‌شود(۴). ذرات معلق آلودگی هوا به طور مستقیم در ایجاد و وخیم شدن بیماری‌های تنفسی، بیماری‌های قلبی- عروقی و کاهش عملکرد ریه نقش دارند. همچنین مطالعه‌ها نشان می‌دهد که تماس با غلظت‌های بالای ذرات معلق آلودگی هوا در ایجاد مشکلات مختلفی از قبیل تولد نوزاد نارس و مرگ و میر پیش از تولد نقش دارد(۴،۵). مطالعه‌های جدید بیانگر ارتباط این ذرات با بیماری‌های متابولیک از قبیل دیابت و آترواسکلروز و همچنین بیماری‌های نورولوژیک است(۶،۷). علاوه بر استنشاق ذرات معلق، این ذرات با آلوده کردن مواد غذایی و آب، توسط افراد بلع می‌شوند. همچنین قسمتی از این ذرات که توسط موکوس و مژک‌های دستگاه تنفسی به دام می افتد ممکن است بلع و به این ترتیب به دستگاه گوارش وارد شوند(۸). تخمین زده می‌شود که در کشورهای غربی، هر فرد به طور روزانه 10^{12}-10^{14} ذره معلق را همراه با مواد غذایی می بلعد. تعداد ذرات بلع شده از طریق بلع موکوس دستگاه تنفسی به 10^{9}-10^{12} در روز می‌رسد(۸).

مطالعه‌های اپیدمیولوژیک ارتباط آلودگی هوا با سرطان‌های دستگاه گوارش را نشان می‌دهد(۹). همچنین میزان مراجعه افراد به مراکز درمانی به دلیل التهاب آپاندیس در روزهای آلوده نسبت به روزهای پاک بیشتر است که می‌تواند به دلیل القای التهاب توسط ذرات معلق آلودگی هوا باشد(۱۰). همچنین ابتلا به بیماری‌های التهابی دستگاه گوارش در جوامع صنعتی و پیشرفته مشاهده می‌شود. از جمله این بیماری‌ها سندرم روده تحریک‌پذیر است. مطالعه‌های انجام شده در انگلستان بیانگر افزایش شیوع بیماری کرون و زخم‌های گوارشی در کودکان و افراد با سنین پایین ساکن در مناطق آلوده صنعتی است(۱۱). همچنین آلودگی هوا نوزادان را به عفونت‌های دستگاه گوارش واسهال‌های میکروبی مستعد می‌کند(۸). ذرات آلودگی هوا در القای شرایط التهابی سیستمیک در بدن نقش دارند. در اثر تحریک سلول‌های دفاعی سیستم تنفسی، این سلول‌ها عوامل التهابی تحت عنوان سایتوکاین تولید می‌کنند که برخی از این سایتوکاین‌ها به جریان خون وارد شده و موجب ایجاد شرایط التهابی سیستمیک در بدن می‌شوند. این ذرات با تاثیر بر سلول‌های پوششی و ایمنی دستگاه گوارش، سبب افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و تولید سایتوکاین‌های التهابی می‌شوند. التهاب مزمن در بروز بیماری‌های دستگاه گوارش از جمله چاقی، دیابت نوع دو، سندرم روده تحریک‌پذیر مهم است(۸). محققان پیشنهاد می‌کنند که ذرات معلق آلودگی هوا بر ترکیب میکروبی روده و عملکرد این میکروارگانیسم‌ها تاثیر می‌گذارد، باکتری‌های مفید روده نقش مهمی را در حفظ سلامت روده ایفا می‌کنند و تغییر در ترکیب این باکتری‌ها در استعداد ابتلا به بیماری‌های دستگاه گوارش موثر است(۱۲). در ارتباط با چگونگی عملکرد پارتیکل‌های معلق باید به سلول‌های ماکروفاژی که از عمده‌ترین سلول‌های دفاعی مهم در دستگاه گوارش محسوب می‌شوند، اشاره کرد. تعدادی از این ماکروفاژها در مخاط دستگاه گوارش قرار دارند. دسته دیگر این ماکروفاژها با عنوان ماکروفاژهای پریتونئال در فضای شکمی صفاق یا پریتوئن قرار دارند، این سلول‌ها در پاسخ به میکروب‌ها و عواملی که از دیواره روده وارد فضای شکمی می شوند نقش دارند(۱۳). مطالعه‌های in vitro نقش سلول‌های ماکروفاژ صفاقی را در کنترل بیماری‌های التهابی و خودایمن مطرح می‌کنند. این سلول‌ها تحت تاثیر ریزمحیط اطراف پلاریزه شده و پاسخ‌های ایمنی را به پیش می‌برند. برخی از مطالعه‌ها پلاریزه شدن ماکروفاژهای پریتونئال را مستقل از لنفوسیت‌های T می‌دانند(۱۴،۱۵). ماکروفاژهای پریتونئال در پاسخ به عوامل عفونی در ناحیه صفاق نقش مهمی را بر عهده دارند، همچنین این سلول‌ها در پاکسازی سلول‌های آپوپتوتیک در حفره صفاق عمل می‌کنند(۱۶).

همچنین مشخص شده است که PM2.5 سبب افزایش تولید سایتوکاین‌های التهابی در ماکروفاژهای پریتونئال موش می‌شود(۱۷). بررسی آثار التهابی ذرات معلق آلودگی هوا در لاین‌های سلولی ماکروفاژی، افزایش تولید سایتوکاین‌های التهابی از قبیل IL-6 و TNF-alpha را نشان می‌دهد(۱۸).

همچنین تعدادی از مطالعه‌ها نشان می‌دهند که ماکروفاژها پس از مواجهه با پارتیکل‌های آلودگی هوا در محیط کشت فعال شده و سایتوکاین‌های التهابی تولید می‌کنند(۱۹)(۲۰).

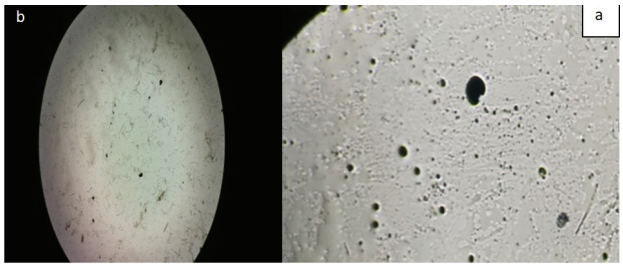
از آنجا که قدرت التهابی و سایتوتوکسیک ذرات معلق آلودگی هوا در فصول و شهرهای مختلف، متفاوت است(۲۰) و تهران یکی از شهرهای آلوده دنیا محسوب می‌شود و سطح ذرات معلق PM2.5 و PM10 در هوای برخی از مناطق آن از استاندارد بین‌المللی تجاوز می‌کند(۲۱)(۲۲)، همچنین اثر ذرات معلق آلودگی هوای شهر تهران بر سلول‌های ایمنی تا کنون بررسی نشده است، پرداختیم. این مطالعه در گروه ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران(بهار و تابستان ۱۳۹۷)، آثار پارتیکل‌های جمع‌آوری شده در فصل زمستان شهر تهران را بر ماکروفاژهای صفاقی موش C57/BL6 در شرایط in vitro بررسی کرد.

روش کار:

این مطالعه به‌صورت تجربی مداخله‌ای انجام شد.

استخراج پارتیکل‌ها:

ذرات معلق آلودگی هوا با سایز کمتر از ۲،۵ میکرون (PM2.5) و ذرات با سایز کمتر از ۱۰میکرون (PM10) در قالب فیلترهای گلاس فیبر ساخت شرکت Shibata biotechnology ژاپن از شرکت کنترل کیفیت هوای تهران دریافت شد. این فیلترها از پایگاه‌های غرب و شرق تهران گرفته شد. بخش‌های حاوی ذرات جذب شده در نوارفیلترها پس از جداسازی در آب مقطر دیونیزه قرار گرفتند و با دستگاه سونیکاتور سونیکه شدند. سونیکاتور موجب آزاد شدن پارتیکل‌ها از فیلتر به واسطه امواج فراصوت می‌شود. در مرحله بعد بخش مایع حاوی پارتیکل از غربیل با سایزهای ۱۰۰، ۸۰ و ۴۰ میکرون عبور داده شد. محلول صاف شده در لوله‌های پلی اتیلنی ۱۵ میلی‌لیتری در دور 13000RPM به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع رویی دور ریخته شد و پلت حاصل از لوله‌های پلی‌اتیلنی در میکروتیوب ۱،۵ میلی‌لیتری جمع‌آوری و دوباره در دور RPM ۱۳ هزار به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در انتها مایع رویی دور ریخته شد و پلت حاصل از نظر حضور ذرات معلق با میکروسکوپ نوری بررسی شد(تصویر ۱).



تصویر شماره ۱. بررسی ته‌نشین حاصل از استخراج پارتیکل‌ها با میکروسکوپ نوری(۴۰×) a) ذرات با قطر کمتر از ۱۰ میکرون در میکروسکوپ نوری. b) ذرات با قطر کمتر از ۲،۵ میکرون در میکروسکوپ نوری

برای ذخیره‌سازی در بافر PBS معلق شد و در تاریکی و یخچال چهاردرجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگه‌داری شد(۲۳).

آماده‌سازی حیوانات:

در این مطالعه موش‌های نژاد C57BL/6، 8-6 هفته‌ای نر، با میانگین وزن 25±2 گرم از پژوهشگاه رویان تهران خریداری شد. برای دستیابی به سلول‌های ایمنی از تعداد پنج موش لاواژ صفاقی انجام شد. برای ایجاد حداقل درد، حیوان با عمل جداسازی مهره‌های گردن قطع نخاع شد. تمامی مراحل کار با حیوان طبق اصول اخلاقی و در شرایط استریل انجام شد. به‌کمک لاواژ و با تزریق محیط RPMI (شرکت Bio sera) سرد به محوطه صفاقی موش، ماکروفاژهای صفاقی اخذ شد. مایع حاصل از لاواژ در لوله‌های پلی‌پروپینی ۱۵ میلی‌لیتری سانتریفیوژ شد(۲۴).

کشت سلول و تیمار با پارتیکل‌ها:

پس از اتمام سانتریفیوژ، مایع رویی خارج شد و ته‌نشین سلولی حاصل دوباره در ml10 محیط کشت کامل RPMI قرار گرفت. سلول‌ها را از نظر درصد زنده بودن، با رنگ تریپان بلو(شرکت مرک آلمان) بررسی و از نظر تعداد با لام نئوبار شمارش کردیم. سپس براساس تعداد کل سلول‌های به دست آمده، سلول‌ها با

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-02]

تعداد 1×10^6 وارد پلیت‌های ۲۴ خانه شد. سپس میکروپلیت‌ها در داخل انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد باجریان عبور CO_2 ۵درصد قرار گرفت. بعد از مدت ۱۲ ساعت ماکروفاژهای پریتونئال به بسترکشت می‌چسبند. پس از سپری شدن زمان انکوباسیون محیط رویی که حاوی سلول‌های غیر چسبنده است، برداشت شد. سلول‌های ماکروفاژمتصل به بستر کشت با ذرات معلق درغلظت‌های 10 µg/ml و 5µg/ml در محیط کامل RPMI تیمار و به چاهک‌ها اضافه شدند. به هر چاهک، غلظت‌های پارتیکل به صورت داپلیکیت اضافه شد. به دو چاهک به عنوان گروه کنترل محیط کشت کامل RPMI با دمای ۳۷ درجه به تنهایی اضافه شد. دوباره پلیت‌ها به انکوباتور منتقل شدند(۱۷)(۲۳).

سنجش حیات سلولی با روش MTT:

سلول‌های سیستم ایمنی از جمله ماکروفاژها در اثر تحریک با عوامل بیگانه، فعال شده و تکثیر می‌شوند. میزان حیات و فعالیت سلول‌ها را پس از مواجه شدن با یک عامل بیگانه با تست MTT بررسی می‌کنند. این تکنیک بر اساس احیا شدن یک ماده زرد رنگ به نام تترازولیوم به یک ماده ارغوانی رنگ محلول به نام فورمازان است. این واکنش توسط آنزیم سوکسینات دی هیدروژناز که در میتوکندری سلول‌های زنده برای عمل تنفس سلولی حضور دارد، انجام می‌شود. سلول‌های مرده به دلیل نداشتن این آنزیم و غیرفعال بودن میتوکندری، قادر به انجام این واکنش نیستند و این تغییر رنگ در سلول‌های مرده انجام نمی‌شود. پس از گذشت ۲۴ ساعت انکوباسیون سلول‌ها با ذرات معلق آلودگی هوا، پلیت‌های کشت سلولی از انکوباتور خارج شدند. ماکروفاژها با داشتن خاصیت ذاتی اتصال به شیشه و پلاستیک به کف پلیت‌ها چسپیده بودند، بنابراین نیازی به سانتریفیوژ پلیت‌ها نبود. پس از بررسی وضعیت ظاهری سلول‌ها با میکروسکوپ اختلاف فاز، محلول رویی خارج شد و سلول‌ها را با PBS گرم شست و شو دادیم. سپس ۱۰۰ لاندا از محلول MTT 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide متعلق به شرکت سیگما به هر چاهک اضافه شد. پلیت در انکوباتور CO_2 دار ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار ساعت انکوبه شد. بعد از اتمام دوره انکوباسیون مایع رویی را خارج کردیم و به هر چاهک ۱۰۰ لاندا الکل ایزوپروپانول اسیدی اضافه کردیم. الکل سبب لیز سلول‌ها و آزاد شدن رنگ می‌شود. در حدود پنج تا ۱۰ دقیقه پلیت در دمای اتاق انکوبه شد. سپس با دستگاه اسپکتوفتومتر STAT Fax در طول موج ۵۷۰ نانومتر در مقیاس اندازه‌گیری و نیز ۶۲۰ نانومتردرمقیاس استاندارد قرائت شد(۲۵).

آنالیز آماری نتایج:

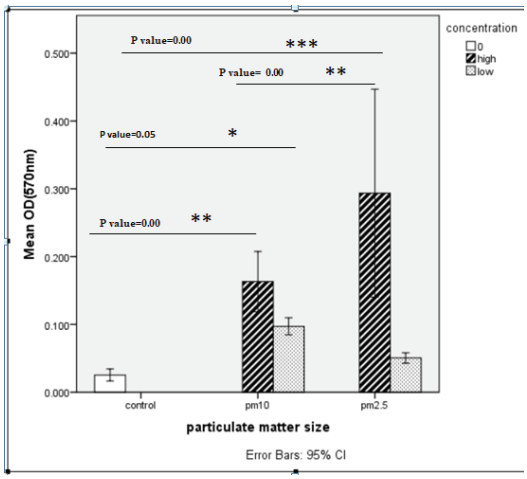
داده‌ها حاصل از سه بار تکرار و به صورت داپلیکیت است. تحلیل نتایج و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار SPSS Version ۲۱ انجام شد. برای مقایسه بین میانگین‌ها در این مطالعه، پس از تایید نرمال بودن توزیع داده‌ها، تست one-way ANOVA و PostHoc و Tukey استفاده شد. نتایج حاصل به صورت میانگین خطای استاندارد گزارش شده است. P value<0.05 به عنوان مبنای معنادار بودن آماری نتایج است.

نتایج:

تاثیر ذرات معلق آلودگی هوا بر فعالیت حیاتی سلول‌های ماکروفاژی پریتونئال

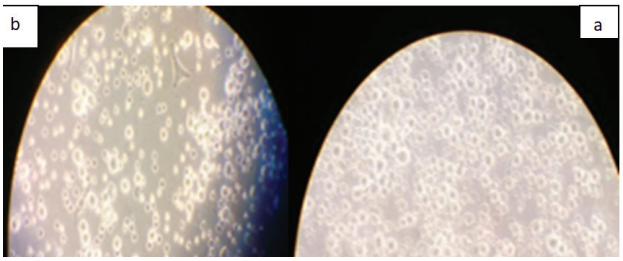
نتایج تست MTT بیانگر عدم سمیت این ذرات در غلظت‌های پنج میکروگرم در میلی‌لیتر و ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در سلول‌های ماکروفاژی پریتونئال است. ذرات معلق آلودگی هوا سبب افزایش فعالیت حیاتی ماکروفاژهای پریتونئال در مقایسه با گروه کنترل شدند.

در این مطالعه مشخص شد که ذرات معلق با قطر۱۰میکرون، پس از ۲۴ ساعت هم کشتی، در غلظت ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل توجهی فعالیت حیاتی ماکروفاژهای پریتونئال را افزایش داده است(P value=0.00)(نمودار شماره ۱). بیشترین میزان افزایش فعالیت حیاتی ماکروفاژهای پریتونئال مربوط به PM2.5 با غلظت ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود(P value=0.00). میزان فعالیت حیاتی ماکروفاژهای پریتونئال تیمار شده با غلظت‌های پنج میکروگرم در میلی‌لیتر در دو سایز ذرات با قطر ۲,۵ میکرون و ۱۰ میکرون نیز نسبت به گروه کنترل افزایش یافت اما فقط در مورد ذرات PM10 از نظر آماری معنادار بود(P value<0.05)(نمودار شماره ۱).

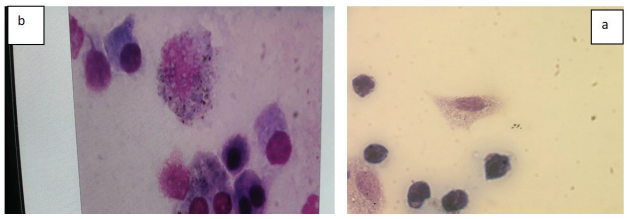


نمودار شماره ۱. مقایسه میانگین ± انحراف معیار میزان جذب نوری و OD سلول‌های ماکروفاژی تحت تیمار با غلظت‌های مختلف پارتیکل‌ها در دو سایز PM2.5 و PM10 بیانگر افزایش فعالیت حیاتی ماکروفاژهای پریتونئال متعاقب تیمار با پارتیکل در مقایسه با کنترل پس از مدت زمان ۲۴ ساعت است.
(غلظت low: غلظت کمتر ذرات معلق(5 µg/ml) و غلظت high: غلظت بالاتر ذرات معلق(10 µg/ml))

همچنین در بررسی‌های میکروسکوپ نوری، ماکروفاژهای پریتونئال تیمار شده با ذرات معلق آلودگی هوا در مقایسه با گروه کنترل به لحاظ مورفولوژی تفاوت آشکاری را نشان دادند. در سیتوپلاسم ماکروفاژهای پریتونئال تیمار شده علاوه بر پارتیکل‌ها، واکوئل‌های بیشتری حضور داشتند که نشان‌دهنده فعال شدن ماکروفاژها به وسیله ذرات معلق آلودگی هواست(تصویر۳و۲).



تصویر شماره ۲ – بررسی سلول‌های ماکروفاژ صفاقی در میکروسکوپ اختلاف فاز بیانگر فعال شدن این سلول‌ها متعاقب تیمار با پارتیکل و بلع این پارتیکل‌هاست. a)سلول‌های ماکروفاژ صفاقی بدون حضور ذرات معلق. b) سلول‌های ماکروفاژ صفاقی در حضور ذرات معلق.



تصویر شماره ۳– سلول‌های ماکروفاژ صفاقی رنگ‌آمیزی شده با رنگ گیمسا در بررسی با میکروسکوپ نوری، فاگوسیتوز این ذرات به وسیله ماکروفاژهای پریتونئال را نشان می‌دهد.
-a سلول‌های ماکروفاژ صفاقی بدون حضور ذرات معلق.
-b سلول‌های ماکروفاژ صفاقی در حضور ذرات معلق، این ذرات رامی‌بلعند.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-02]

بحث و نتیجه‌گیری:

ذرات معلق آلودگی هوا به عنوان مهم‌ترین شاخص کیفیت هوای شهرها مطرح هستند(۲۶). امروزه مطالعه‌های اپیدمیولوژیک بیانگر ارتباط عوامل آلودگی هوا و به خصوص PMها در ایجاد اختلال‌های تنفسی و بیماری‌های قلبی- عروقی هستند(۲۷). مطالعه‌های اخیر نقش این ذرات را در ایجاد بیماری‌های متابولیک و اختلال‌های سیستم گوارشی که التهاب نقش مهمی را در ایجاد آن دارد، مطرح می‌کنند(۲۸)(۲۹).

این ذرات علاوه بر سمیت مستقیم بر سلول‌های بدن، به ویژه سلول‌های دستگاه تنفسی، در فعالیت‌های سیستم ایمنی نیز اختلال ایجاد می‌کنند که امروزه مرکز توجه بسیاری از مطالعه‌های ایمونولوژیک قرار گرفته‌اند(۳۰)(۳۱). در مطالعه ما، پارتیکل‌های با اندازه کوچک‌تر(PM2.5) در مقایسه با ذرات PM10 در افزایش فعالیت حیاتی ماکروفاژ نقش داشتند. تعدادی از مطالعه‌ها به آثار التهابی ذرات با قطر بزرگ‌تر در مقایسه با ذرات کوچک‌تر در ایجاد شرایط التهابی تاکید دارند(۱۸,۳۴). مطالعه‌های دیگر ذرات PM2.5 را القاکننده قوی پاسخ‌های التهابی در سیستم ایمنی می‌دانند(۳۵). اما آنچه واضح است این ذرات از نظر اندازه، منبع تولید و ترکیب متفاوتند و تحت تاثیر شرایط جغرافیایی و آب و هوایی مناطق مختلف هستند و نمی‌توان نتایج حاصل از مطالعه‌ها در مناطق دیگر را تعمیم داد. مطالعه‌های انجام شده در شهرهای مختلف آثار التهابی این ذرات بر سیستم ایمنی را مطرح می‌کنند(۳۲,۳۳). بیشترین آثار ذرات معلق بر سیستم ایمنی را می‌توان به ذرات با قطر ۲,۵ میکرون نسبت داد، زیرا ذرات با اندازه بزرگ‌تر در موکوس مجاری فوقانی سیستم تنفسی به دام افتاده و به وسیله مژک‌های دستگاه تنفسی به بیرون هدایت می‌شوند(۲,۳۶). اما قسمتی از این موکوس و ذرات گیر افتاده در آن ممکن است بلع شوند و آثار مخرب خود را بر سلول‌های دستگاه گوارش و سلول‌های ایمنی در این ناحیه اعمال کنند(۸).

نتایج حاصل از تست MTT بیانگر اثر ذرات معلق آلودگی هوا در فعال‌سازی و افزایش فعالیت حیاتی ماکروفاژهای ناحیه صفاقی در غلظت‌های بالاتر (10µg/ml) است. این فعال‌سازی می‌تواند منجر به افزایش فعالیت التهابی این سلول‌ها شود که مکانیسم و چگونگی عملکرد این سلول‌ها در اثر التهاب نیاز به مطالعه‌های تکمیلی دارد.

مطالعه‌ها نشان می‌دهد که پارتیکل‌های آلودگی هوا موجب افزایش انفجار تنفسی در سلول‌های ماکروفاژی و درنتیجه افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن از قبیل سوپراکسیدها و پراکسیدها می‌شود(۳۷)(۳۸). NADPH اکسیداز، آنزیم کلیدی در تولید گونه‌های فعال اکسیژن در سلول‌های فاگوسیتی سیستم ایمنی است. بنابراین پارتیکل‌های آلودگی هوا به واسطه افزایش فعالیت این آنزیم در افزایش فعالیت حیاتی ماکروفاژها نقش دارند(۳۹). از این رو در تست MTT میزان بیشتری از معرف تترازولیوم به وسیله آنزیم NADPH اکسیداز و همچنین گونه‌های فعال اکسیژن احیا شده و در نتیجه جذب نوری سلول‌های تیمار شده با پارتیکل در مقایسه با سلول‌های کنترل افزایش می‌یابد. شایان ذکر است که MTT تست رایج در ارزیابی انفجار تنفسی در سلول‌های فاگوسیتی سیستم ایمنی نیست اما برخی از مطالعه‌ها استفاده از این روش و تعمیم نتایج MTT به افزایش انفجار تنفسی را مطرح می‌کنند(۴۰). همچنین برخی از مطالعه‌ها از تکنیک XTT که بر مبنای احیای معرفی به همین نام بوده و در نهایت موجب تشکیل فورمازان می‌شود، استفاده کرده‌اند(۳۷).

بررسی‌های مشابه نشان دادند که ذرات معلق با داشتن ترکیب‌های میکروبی از قبیل اندوتوکسین و اسپورهای قارچی، توسط گیرنده‌های ماکروفاژی TLR4 و CD14 قابل شناسایی هستند. فلزات محلول و کینون‌های موجود در ساختار ذرات معلق با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، به واسطه فعال شدن فاکتور نسخه‌برداری NF-KB واکنش‌های التهابی را القا می‌کنند. همچنین ذرات معلق آلودگی هوا با آسیب به سلول‌های بدن موجب افزایش تولید DAMP ها می‌شوند که این الگوهای آسیب سلولی نیز ممکن است به وسیله TLR ها شناسایی شوند و فعال شدن ماکروفاژها و تولید سایتوکاین های التهابی را به دنبال داشته باشند(۴۳-۴۱). بررسی آثار ذرات معلق آلودگی هوا بر ماکروفاژهای پریتونئال بیانگر افزایش فعالیت التهابی این سلول‌ها متعاقب مجاورت با پارتیکل‌هاست(۴۴). ماکروفاژهای پریتونئال از مهم‌ترین سلول‌های ایمنی ساکن فضای پریتوئن محسوب می‌شوند که به واسطه ارتباط با سلول‌های مزوتلیال، سلول‌های لنفوسیتی B-1 و سایر سلول‌های سیستم ایمنی در حفره صفاقی در پاکسازی این ناحیه از سلول‌های آپوپتوتیک و عوامل پاتوژن نقش دارند. این ارتباطات به واسطه سایتوکاین‌ها و مولکول‌های چسپندگی است. بنابراین تغییر در الگوی التهابی این سلول‌ها موجب اختلال در پاسخ‌های ایمنی ناحیه صفاق می‌شود(۴۵).

مطالعه‌ها نشان می‌دهد که تغییر در تعداد و فعالیت ماکروفاژهای پریتونئال و سلول‌های ایمنی ناحیه صفاقی در افزایش استعداد ابتلا به بیماری‌هایی از قبیل اندومتریوز، افزایش تهاجم و متاستاز سرطان‌های دستگاه گوارش موثر هستند(۴۶). همچنین مطالعه‌های حیوانی نشان می‌دهد که این سلول‌ها در ترمیم آسیب‌های اندام‌های حفره صفاقی از قبیل کبد، پیش آگهی بهتر سیروز و آسیت ناشی از آن و بهبود سپسیس در ناحیه صفاقی نیز موثرند(۴۷)(۴۸). با توجه به شواهد مذکور و محتوای شیمیایی و ماهیت پارتیکل‌های آلودگی هوا و نیز مکانیسم تاثیر این ذرات بر سلول‌های سیستم ایمنی، می‌توان نقش این ذرات در فعال‌سازی ماکروفاژهای صفاقی و ارتباط آن با اختلال‌های مختلف را مطرح کرد. به‌طوری‌که بلع پارتیکل‌های راه یافته به محوطه صفاقی که می‌تواند با آسانی از طریق بلع مواد غذایی آلوده یا حتی جریان گردش خون صورت پذیرد، موجب افزایش فعالیت ماکروفاژهای این منطقه شده و اثر تحریکی بر فرآورده‌های آن‌ها به‌خصوص تولید سیتوکاین‌های التهابی داشته باشد که دراین مورد تحقیق‌های بیشتر توسط همین گروه در حال انجام است.

منابع:

1. Bernstein JA, Alexis N, Barnes C, Bernstein IL, Bernstein JA, Nel A, et al. Health effects of air pollution. J Allergy Clin Immunol. 2004;114(5):1116–23.
2. Ni L, Chuang C, Zuo L. Fine particulate matter in acute exacerbation of COPD. 2015;6(October):1–10.
3. Nagar JK, Akolkar AB, Kumar R. A review on airborne particulate matter and its sources , chemical composition and impact on human respiratory system. Int J Environ Sci [Internet]. 2014;5(2):447–63.
4. Kim K, Kabir E, Kabir S. A review on the human health impact of airborne particulate matter. Environ Int [Internet]. 2015;74:136–43.
5. Huang YT, Al-hegelan M. Adverse Effects of Outdoor Air Pollution. 2012;19(1):14–20.
6. Wright JC, Ding Y. Pathophysiological effects of particulate matter air pollution on the central nervous system. 2017;85–9.
7. Genc S, Zadeoglulari Z, Fuss SH, Genc K. The Adverse Effects of Air Pollution on the Nervous System. 2012;2012.
8. Beamish LA, Osornio-Vargas AR, Wine E. Air pollution: An environmental factor contributing to intestinal disease. J Crohn's Colitis [Internet]. 2011;5(4):279–86.
9. Mills PK, Abbey D, Beeson WL, Petersen F. Ambient air

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-02]

pollution and cancer in california seventh-day adventists. Arch Environ Health. 1991;46(5):271–80.
10. Kaplan GG, Dixon E, Panaccione R, Fong A, Chen L, Szyszkowicz M, et al. Effect of ambient air pollution on the incidence of appendicitis. Cmaj [Internet]. 2009;181(9):591–7.
11. Kaplan GG, Hubbard J, Korzenik J, Sands BE, Panaccione R, Ghosh S, et al. The Inflammatory Bowel Diseases and Ambient Air Pollution: A Novel Association. Am J Gastroenterol [Internet]. 2010;105(11):2412–9.
12. Salim SY, Kaplan GG, Madsen KL. Air pollution effects on the gut microbiota. Gut Microbes [Internet]. 2013;5(2):215–9.
13. Gordon S, Plüddemann A, Martinez Estrada F. Macrophage heterogeneity in tissues: Phenotypic diversity and functions. Immunol Rev. 2014;262(1):36–55.
14. Oishi S, Takano R, Tamura S, Tani S, Iwaizumi M, Takagaki K, et al. M2 polarization of murine peritoneal macrophages induces regulatory cytokine production and suppresses T-cell proliferation. 2016;12:320–8.
15. Zhang D, Zhang S, Cheng QH, Wu F, Wu J, Zhang J. Effects of peritoneal macrophage autophagy on the immune function of sepsis mice. 2017;6(4):52–9.
16. Gogacz M, Ga K, Winkler I, Adamiak A, Romanek-piva K, Rechberger T, et al. Fas-Related Apoptosis of Peritoneal Fluid Macrophages in Endometriosis Patients : Understanding the Disease. 2017;2017.
17. Zhao Q, Chen H, Yang T, Rui W, Liu F, Zhang F, et al. Biochimica et Biophysica Acta Direct effects of airborne PM 2 . 5 exposure on macrophage polarizations. BBA - Gen Subj [Internet]. 2016;1860(12):2835–43.
18. Pozzi R, De Berardis B, Paoletti L, Guastadisegni C. Inflammatory mediators induced by coarse (PM2. 5–10) and fine (PM2. 5) urban air particles in RAW 264.7 cells. Toxicology [Internet]. 2003;183(1):243–254.
19. Kocbach A, Namork E, Schwarze PE. Pro-inflammatory potential of wood smoke and traffic-derived particles in a monocytic cell line. Toxicology. 2008;247(2–3):123–32.
20. Hetland RB, Cassee FR, Lag M, Refsnes M, Dybing E, Schwarze PE. Cytokine release from alveolar macrophages exposed to ambient particulate matter: heterogeneity in relation to size, city and season. Part Fibre Toxicol. 2005;2:4.
21. Bidhendi N. Aerosol Size Segregated of Tehrann's Atmosphere in Iran. 2007;1(1):58–65.
22. Azam AG, Zanjani BR, Mood MB. Effects of air pollution on human health and practical measures for prevention in Iran. 2016;
23. Labranche N, Khattabi C El, Berkenboom G, Pochet S. Effects of diesel exhaust particles on macrophage polarization. 2016;1–9.
24. Xia Zhang, Ricardo Goncalves, and David M. Mosser. The Isolation and Characterization of Murine Macrophages.NIH Public Access. 2010;1–18.
25. Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Benink HA, Worzella TJ. Cell Viability Assays. 2016;1–31.
26. Fuzzi S, Baltensperger U, Carslaw K, Decesari S, Gon HD Van Der, Facchini MC, et al. Particulate matter , air quality and climate : lessons learned and. 2015;8217–99.
27. Fuller CH, Feeser KR, Sarnat JA, Neill MSO. Air pollution , cardiovascular endpoints and susceptibility by stress and material resources : a systematic review of the evidence. 2017;1–17.
28. Viehmann A, Hertel S, Fuks K, Eisele L, Moebus S, Möhlenkamp S, et al. Long-term residential exposure to urban air pollution , and repeated measures of systemic blood markers of inflammation and coagulation. 2015;656–63.
29. Kaufman JD, Spalt EW, Curl CL, Hajat A, Jones MR, Kim S, et al. Advances in Understanding Air Pollution and CVD. Glob Heart [Internet]. 2018;11(3):343–52.
30. Du Y, Xu X, Chu M, Guo Y, Wang J. Air particulate matter and cardiovascular disease : the epidemiological , biomedical and clinical evidence. 2016;8(1):8–19.
31. Khafaie MA, Yajnik CS, Salvi SS, Ojha A. CRITICAL REVIEW OF AIR POLLUTION HEALTH EFFECTS. 2016;1(Spring):123–36.
32. Eeden SF Van, Tan WANC, Suwa T, Mukae H, Terashima T, Fujii T, et al. Cytokines Involved in the Systemic Inflammatory Response Induced by Exposure to Particulate Matter Air Pollutants (PM 10). 1997;
33. Schins RPF, Lightbody JH, Borm PJA, Shi T, Donaldson K, Stone V. Inflammatory effects of coarse and fine particulate matter in relation to chemical and biological constituents. 2004;195:1–11.
34. Soukup JM, Becker S, Particulate I, Soukup E. Human Alveolar Macrophage Responses to Air Pollution Particulates Are Associated with Insoluble Components of Coarse Material , Including Particulate Endotoxin 1 Human Alveolar Macrophage Responses to Air Pollution Par-. 2001;26:20–6.
35. Park E, Roh J, Kim Y, Park K, Kim D, Yu S. PM 2 . 5 collected in a residential area induced Th1-type inflammatory responses with oxidative stress in mice. Environ Res [Internet]. 2011;111(3):348–55.
36. Simo NR, Hila IP, Santos UDP, Alberto L, Pereira A. REVIEW A review of low-level air pollution and adverse effects on human health : implications for epidemiological studies and public policy. 2011;66(4):681–90.
37. Breznan D, Goegan P, Chauhan V, Karthikeyan S, Kumarathasan P, Cakmak S, et al. Toxicology in Vitro Respiratory burst in alveolar macrophages exposed to urban particles is not a predictor of cytotoxicity. Toxicol Vitr [Internet]. 2013;27(4):1287–97.
38. Beck-speier I, Dayal N, Karg E, Maier KL, Schumann G, Schulz H, et al. Oxidative stress and lipid mediators induced in alveolar macrophages by ultrafine particles. 2005;38:1080–92.
39. Segal BH, Grimm MJ, Khan ANH, Han W, Blackwell TS. Free Radical Biology and Medicine Regulation of innate immunity by NADPH oxidase $. Free Radic Biol Med [Internet]. 2012;53(1):72–80.
40. Pruett SB, Loftis AY. Characteristics of MTT as an Indicator of Viability and Respiratory Burst Activity of Human Neutrophils 1. 1990;189–92.
41. Rebecca N. Bauer, , David Diaz-Sanchez, and Ilona Jaspers. Effects of air pollutants on innate immunity: The role of Toll-like receptors and nucleotide-binding oligomerization domain–like receptors.NIH Public Access. 2015;129(1):14–26.
42. Miyata R, Eeden SF Van. The innate and adaptive immune response induced by alveolar macrophages exposed to ambient particulate matter. 2011;257:209–26.
43. Vawda S, Mansour R, Takeda A, Funnell P, Kerry S, Mudway I, et al. Human Genome Epidemiology (HuGE) Review Associations Between Inflammatory and Immune Response Genes and Adverse Respiratory Outcomes Following Exposure to Outdoor Air Pollution : A HuGE Systematic Review. 2013;
44. Gawda A, Majka G, Nowak B, Śróttek M, Walczewska M. Air particulate matter SRM 1648a primes macrophages to hyperinflammatory response after LPS stimulation. Inflamm Res [Internet]. 2018;67(9):765–76.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-02]

45. Martin-saavedra JS. The Peritoneum : Beyond the Tissue –. 2018;9(June):1–12.

46. Sun F, Feng MIN, Guan W. Mechanisms of peritoneal dissemination in gastric cancer (Review). 2017;6991–8.

47. Wang J, Kubes P, Wang J, Kubes P. Article A Reservoir of Mature Cavity Macrophages that Can Rapidly Invade Visceral Organs to Affect Tissue Article A Reservoir of Mature Cavity Macrophages that Can Rapidly Invade Visceral Organs to Affect Tissue Repair. Cell [Internet]. 2016;165(3):668–78.

48. Irvine KM, Banh X, Gadd VL, Wojcik KK, Ariffin JK, Jose S, et al. CRIg-expressing peritoneal macrophages are associated with disease severity in patients with cirrhosis and ascites. 2016;1(8):1–15.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-02]