

## Investigating the Effects of Sulfur Dioxide Gas on the Level of Pro - Inflammatory Cytokines IL-6 and TNF-a and Hippocampal Cell Changes in Mice

Arezou Sadeghnejad Haghghi, Maryam Tehranipour\*, Ali Neamati Baghsiyah

Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

Received: August 02, 2022; Accepted: February 27, 2023

### Abstract

**Background and Aim:** Cytokine levels increase in response to air pollution. Air pollution is one of the most important factors affecting the general health of society and has become a concern in large and industrial cities. One of the air-polluting components is sulfur dioxide (SO<sub>2</sub>). Based on epidemiological studies, SO<sub>2</sub> aggravates various diseases such as cardio-pulmonary, cancer, progressive neurological diseases such as Alzheimer's, etc. The purpose of this study was to investigate the effects of sulfur dioxide gas on the level of pro-inflammatory cytokines IL-6 and TNF- $\alpha$  and hippocampal cell changes in mice.

**Methods:** This research was based on an experimental-laboratory study. Twenty-Four mice were randomly divided into 4 groups (control, Experimental (a) once with a high dose, Experimental (b) one week every day for 5 minutes with a low dose, Experimental (c) 3 weeks every day for 5 minutes with a low dose). In order to expose the animals to SO<sub>2</sub> gas, a chamber was used. After the period, the mice were anesthetized and blood samples were taken from the heart to analyze the inflammatory factors. After the perfusion, the brain was removed from the skull and entered the passage stages. Then cutting and staining the tissue slices, the neuronal density of different hippocampus regions was examined by the dissector method, and the data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's supplementary test.

**Results:** The results showed that the amount of IL-6 in the experimental group b ( $P < 0.05$ ) and c ( $P < 0.001$ ) increased significantly compared to the control group. In addition, the amount of TNF- $\alpha$  also increased significantly in experimental group B ( $P < 0.05$ ) and C ( $P < 0.001$ ) compared to the control group. Also, the neuronal density of different areas of the hippocampus decreased in all groups compared to the control group, which is more significant in the experimental group (c) ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** It seems that the amount of IL-6, TNF- $\alpha$  increased in the experimental groups that were exposed to gas. Also, the neuronal density in all areas of the hippocampus of rats in the experimental groups was lower than in the control group.

**Keywords:** SO<sub>2</sub> Sulfur dioxide; IL-6; TNF- $\alpha$ ; Hippocampus

**Please cite this article as:** Sadeghnejad Haghghi A, Tehranipour M, Neamati Baghsiyah A. Investigating the Effects of Sulfur Dioxide Gas on the Level of Pro - Inflammatory Cytokines IL-6 and TNF-a and Hippocampal Cell Changes in Mice. *Pejouhesh dar Pezeshki*. 2023;47(2):12-22.

\***Corresponding Author:** Maryam Tehranipour; **Email:** maryam\_tehranipour@mshdiau.ac.ir  
Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

## بررسی اثر گاز دی اکسید گوگرد بر سطح سایتوکاین های پیش التهابی IL-6 و TNF- $\alpha$ و تغییرهای سلولی هیپوکامپ در موش سوری

آرزو صادق نژاد حقیقی، مریم طهرانی پور\*، علی نعمتی باغ سیاہ

گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۰۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۱۱

### چکیده

**سابقه و هدف:** سطح سایتوکاین ها در پاسخ به آلودگی هوا افزایش می یابد. آلودگی هوا یکی از مهم ترین عوامل اثرگذار بر سلامت عمومی جامعه بوده و در شهرهای بزرگ و صنعتی به یک نگرانی تبدیل شده است. یکی از اجزای آلوده کننده هوا دی اکسید گوگرد (SO<sub>2</sub>) است. با توجه به عوارض شناخته شده SO<sub>2</sub> در تشدید بیماری های مختلف مانند قلبی- ریوی، سرطان، بیماری های پیشرونده عصبی مانند آلزایمر و ... می شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر گاز دی اکسید گوگرد بر سطح سایتوکاین های پیش التهابی IL-6 و TNF- $\alpha$  و تغییرهای سلولی هیپوکامپ در موش سوری است.

**روش کار:** این تحقیق بر اساس مطالعه تجربی- آزمایشگاهی انجام شد. ۲۴ سر موش سوری به طور تصادفی به چهار گروه (کنترل، تجربی (الف) یکبار با دوز بالا (۱۰۰ ppm)، تجربی (ب) یک هفته هر روز روزی پنج دقیقه با دوز کم (۲۰ ppm)، تجربی (ج) سه هفته هر روز روزی پنج دقیقه با دوز (۲۰ ppm) تقسیم شدند. برای قرارگیری حیوانات در معرض گاز دی اکسید گوگرد SO<sub>2</sub> از اتاقک استفاده شد. پس از اتمام دوره، موش ها بیهوش شده و از قلب برای آنالیز فاکتورهای التهابی خون گیری انجام شد. پس از انجام پرفیوژن مغز از جمجمه خارج و وارد مراحل پاساژ شد. پس از برش گیری و رنگ آمیزی برش های بافتی، دانسیته نورونی مناطق مختلف هیپوکامپ به روش دایسکتور بررسی و داده ها توسط آنالیزهای آماری ANOVA one-way و آزمون تکمیلی Tukyess بررسی شدند.

**یافته ها:** نتایج نشان داد که میزان IL-6 و TNF- $\alpha$  در گروه تجربی ب ( $P < ۰/۰۵$ ) و ج ( $P < ۰/۰۰۱$ ) نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشته است. علاوه بر این که میزان TNF- $\alpha$  نیز در گروه تجربی ب ( $P < ۰/۰۵$ ) و ج ( $P < ۰/۰۰۱$ ) نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشته است. همچنین دانسیته نورونی مناطق مختلف هیپوکامپ در تمام گروه ها نسبت به گروه کنترل کاهش داشت که این کاهش در گروه تجربی (ج) چشمگیرتر و معنادار است ( $P < ۰/۰۵$ ). **نتیجه گیری:** به نظر می رسد میزان IL-6، TNF- $\alpha$  در گروه های تجربی که در معرض گاز قرار گرفته بودند، افزایش یافت. همچنین دانسیته نورونی در تمام مناطق هیپوکامپ موش های گروه های تجربی نسبت به گروه کنترل کمتر شد.

واژگان کلیدی: دی اکسید گوگرد SO<sub>2</sub>؛ IL-6؛ TNF- $\alpha$ ؛ هیپوکامپ

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Sadeghnejad Haghighi A, Tehranipour M, Neamati Baghsiyah A. Investigating the Effects of Sulfur Dioxide Gas on the Level of Pro - Inflammatory Cytokines IL-6 and TNF-a and Hippocampal Cell Changes in Mice. *Pejouhesh dar Pezeshki*. 2023;47(2):12-22.

\*نویسنده مسئول مکاتبات: مریم طهرانی پور؛ آدرس پست الکترونیکی: maryam\_tehranipour@mshdiau.ac.ir  
گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

## مقدمه

به نظر می‌رسد آلودگی هوا در کاهش مقاومت سیستم ایمنی بدن در مقابل بیماری‌ها از بین رفتن بافت ریه، آسم، مرگ و میر زودرس و سرطان بیماری‌های پیش‌رونده عصبی مانند: آلزایمر، پارکینسون، آماس، اختلال‌های شناختی و اوتیسم نقش عمده‌ای دارد (۱). آلودگی هوا تهدیدی دایم و جدی برای شهرهای پرجمعیت است و منجر به تاثیر زیان‌بار بر سلامت و بهداشت جامعه می‌شود و خسارت‌های اقتصادی قابل توجهی به بار می‌آورد. آلاینده‌های اولیه موادی هستند که از منابع به طور مستقیم در مقادیر زیاد به هوای محیط وارد می‌شوند و سبب بروز آثار سوء بهداشتی و مزاحمت در رفاه عمومی در مقیاس مکانی تا اندازه‌های بزرگ می‌شوند و به اصطلاح افراد زیادی را در یک منطقه وسیع تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲). این گروه آلاینده‌ها شامل پنج آلاینده منواکسید کربن (CO)، دی‌اکسید نیتروژن (NO<sub>3</sub>)، ذرات معلق (PM-10, 2.5)، دی‌اکسید گوگرد (SO<sub>4</sub>) و سرب (Pb) است. یکی از عوامل اصلی در بروز این بیماری‌ها، التهاب است که به وسیله سایتوکاین‌های التهابی میانجی‌گری می‌شود. قرار گرفتن افراد سالم در معرض آلودگی هوا هم سبب گسترش التهاب از راه افزایش عوامل التهابی و تغییر در بیان سایتوکاین‌هایی مانند TNF- $\alpha$  و IL-6 می‌شود (۳). از طرف دیگر بیان سایتوکاین‌های ضد التهابی در هوای آلوده کاهش می‌یابد که خود زمینه‌ساز ابتلا به انواع بیماری‌هاست (۴). بر اساس تحقیقات انجام شده، در پاسخ به آلودگی هوا، تغییرهای پیچیده‌ای در سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها صورت می‌گیرد که حجم و ساختار سیستم عصبی مرکزی را تحت تاثیر قرار می‌دهد، به طوری که این بیومارکرها، ارتباط‌دهنده التهاب سیستم عصبی مرکزی و سیستمیک به اختلال‌های رشد مغزی و شناختی در کوتاه مدت و آسیب عصبی در دراز مدت هستند (۵). IL-6 سایتوکاینی است که در بافت مغزی و سرم انسان‌ها و حیواناتی که درازمدت با هوای آلوده مواجه هستند، افزایش می‌یابد (۶). TNF- $\alpha$  نیز در شروع التهاب افزایش یافته و روند آبخاری التهاب را سرعت می‌بخشد. SO<sub>2</sub> به مقدار زیاد در آب محلول بوده و در نتیجه به وسیله

رطوبت در سیستم تنفس فوقانی جذب می‌شود. مهم‌ترین اثر تنفسی غلظت‌های بالای SO<sub>2</sub> عبارت از نارسایی‌های تنفسی، کاهش سیستم دفاعی ریه‌ها و تشدید بیماری قلبی و ریوی است (۷) و افراد دارای بیماری‌های آسم، برونشیت یا آمفیزم و بیماران قلبی و همچنین بچه‌ها و افراد مسن به این گاز حساس هستند، SO<sub>2</sub> به طور عمده سبب برونشیت و تنگی نفس در غلظت‌های به نسبت پایین (۰/۵-۰/۲۵ ppm) می‌شود. تأثیر این آلاینده در سیستم تنفسی در حضور ذرات معلق تشدید می‌شود (۸). با توجه به اثر مضر گاز دی‌اکسید گوگرد SO<sub>2</sub> این تحقیق پایه‌گذاری شد. هدف از این تحقیق بررسی اثر گاز دی‌اکسید گوگرد بر سطح سایتوکاین‌های پیش‌تهابی IL-6 و TNF- $\alpha$  و تغییرهای سلولی هیپوکامپ در موش سوری بود. این مطالعه در تابستان ۱۴۰۱ در گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی مشهد انجام شد.

## روش کار

در این تحقیق که یک مطالعه تجربی-آزمایشگاهی بود، از ۲۴ سر موش سوری نر با محدوده وزنی  $30 \pm 5$  گرم استفاده شد. موش‌ها در اتاق حیوانات با حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. تمامی مراحل آزمایش برای تمامی گروه‌های بررسی شده در شرایط به طور کامل یکسان انجام شد. حیوانات ضمن دسترسی مداوم به آب و غذا امکان تطابق با محیط برایشان فراهم شد. در طول انجام مراحل آزمایش، تمامی اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده و مقاله دارای کد اخلاق IR.IAU.MSHD.REC.1401.020 از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی مشهد است.

موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند:

گروه اول کنترل: این موش‌ها در معرض گاز قرار نگرفتند.

گروه دوم تجربی الف: فقط یک نوبت در معرض گاز با دوز بالا (۱۰۰ ppm) قرار گرفتند.

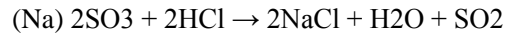
گروه سوم و چهارم تجربی ۳ و ۴: به ترتیب یک هفته و سه هفته همه روزه یک نوبت و هر نوبت پنج دقیقه در معرض گاز با دوز کم (۲۰ ppm) قرار گرفتند. موش‌های هر گروه در قفس لاکتی

۱۰ درصد قرار داده شد و پس از طی مراحل پاساژ بافتی از مغز برش‌های ساژیتال ۷ میکرونی تهیه و با ابی تولوئیدین رنگ‌آمیزی شدند. سپس ناحیه هیپوکامپ و مناطق آن شناسایی شدند و در مناطق یکسان از هر برش نوروهای چهار میدان شمارش شد. تحلیل داده‌ها با آزمون یک طرفه ANOVA one-way و آزمون تکمیلی Tukeyes و با استفاده از نرم‌افزار Minitab16 انجام شد. سطح معناداری ( $P < 0/05$ ). در نظر گرفته شد و منحنی‌ها به کمک نرم‌افزار Excel رسم شدند (۹، ۱۰).

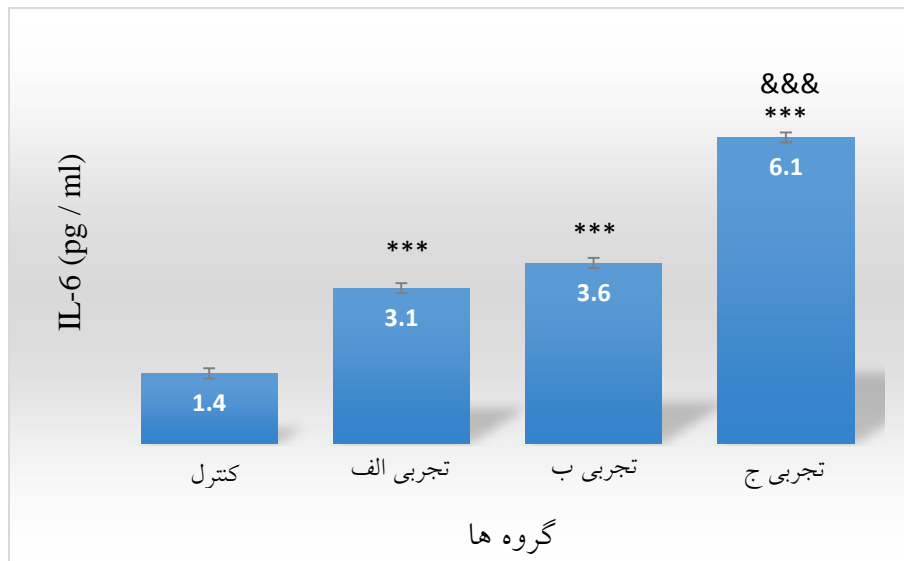
### یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای التهابی خون نشان داد که میانگین اینترلوکین ۶ در تمام گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری داشته است ( $P < 0/001$ ). آنالیز آماری بین گروه‌های تجربی نیز نشان داد که میانگین اینترلوکین ۶ بین گروه تجربی ج و سایر گروه‌های تجربی افزایش معناداری را نشان می‌دهد. مقدار میانگین  $\pm$  انحراف معیار گروه کنترل، گروه الف، گروه ب و گروه ج به ترتیب برابر  $0/05 \pm 1/4$ ،  $0/3$ ،  $0/1 \pm 3/1$ ،  $0/1 \pm 3/6$  و  $0/4 \pm 6/1$  شد ( $P < 0/001$ ).

مخصوص به ابعاد  $40 \times 20 \times 10$  سانتی‌متر قرار گرفته و گاز در بیرون از قفس در دستگاه مخصوص تهیه و توسط شیلنگ لاستیکی به درون قفس هدایت می‌شود (روش شل). برای انجام آزمایش‌های گاز  $SO_2$  طبق واکنش شیمیایی زیر تهیه شد.



وزن نمک و حجم اسید با توجه به خصوصیات و شرایط مواد از قبیل درجه خلوص نمک و درصد اسید تعیین و شرایط آزمایشگاهی نظیر دما فشار و ... نیز در محاسبات لحاظ شد. در تمام گروه‌ها پس از دوره آزمایش، ابتدا خون‌گیری برای ارزیابی میزان فاکتورهای التهابی TNF و IL-6 انجام شد. جداسازی پلاسما از نمونه‌های خونی توسط دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه در محل انجام شد و نمونه‌ها در فریزر ۷۰- نگهداری شدند. برای ارزیابی فاکتورهای التهابی، نمونه‌ها به آزمایشگاه تشخیص طبی انتقال داده شدند. سپس موش‌ها با جابه‌جایی مهره‌های گردنی بیهوش و مغز خارج شد. برای نفوذ بهتر فیکساتور به مغز قبل از تشریح به کمک متد پرفیوژن تا حدی بافت‌های بدن فیکس می‌شوند. پس از اتمام پرفیوژن، مغز به آرامی از جمجمه خارج شده و در فرمالین نمکی



نمودار ۱- میزان اینترلوکین ۶ بر حسب گروه‌های مختلف (n = 6)

میانگین اینترلوکین ۶ بین گروه تجربی ج و سایر گروه‌های تجربی افزایش معناداری را نشان می‌دهد ( $P < 0/001$ ).

مقایسه گروه‌های تجربی با گروه کنترل را نشان می‌دهد ( $P < 0/001$ ).

مقایسه بین گروه‌های تجربی را نشان می‌دهد ( $P < 0/001$ ).

معناداری را نشان داد ( $P < 0/05$ ) و ( $P < 0/001$ ). مقایسه بین گروه‌های تجربی نشان داد که گروه تجربی ج اختلاف معناداری نسبت به گروه‌های تجربی الف و ب دارد.

آنالیز داده‌ها برای فاکتور نکرورز توموری در جدول ۱ نشان داد که گروه تجربی الف اختلاف معناداری با گروه کنترل ندارد در حالی که مقایسه گروه‌های تجربی ب و ج با گروه کنترل افزایش

جدول ۱- میزان فاکتور نکرورز دهنده توموری آلفا در گروه‌های مختلف ( $n = 6$ )

TNF- $\alpha$ (pg / ml)	گروه‌ها
$270 \pm 10$	کنترل: این موش‌ها در معرض گاز قرار نگرفتند
$280 \pm 11$	تجربی الف: (فقط یک نوبت در معرض گاز با دوز بالا (100 ppm) قرار گرفتند)
$310 \pm 9$	تجربی ب: (یک هفته هر روز ۵ دقیقه در معرض گاز با دوز کم (20 ppm) قرار گرفتند)
$400 \pm 18$	تجربی ج: (سه هفته هر روز ۵ دقیقه در معرض گاز با دوز کم (20 ppm) قرار گرفتند)

گروه تجربی ج اختلاف معناداری نسبت به گروه‌های تجربی الف و ب دارد.

\* و \*\*\* مقایسه گروه‌های تجربی با گروه کنترل را نشان می‌دهد ( $P < 0/05$ ) و ( $P < 0/001$ ).

&&& مقایسه بین گروه‌های تجربی را نشان می‌دهد ( $P < 0/001$ ).

دانسیتیه نورونی در گروه ج نسبت به سایر گروه‌های تجربی معنادار است ( $P < 0/05$ ). میانگین  $\pm$  انحراف معیار دانسیته نورونی CA1 در گروه کنترل، گروه الف، گروه ب و گروه ج به ترتیب برابر  $2/4 \pm 85$ ،  $2/4 \pm 80$ ،  $2/4 \pm 70$  و  $2/4 \pm 62$  شد.

آنالیز داده‌ها در نمودار ۲ نشان می‌دهد که در تمام گروه‌های تجربی دانسیته نورونی نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است به طوری که در گروه‌های تجربی ب و ج این کاهش معنادار است ( $P < 0/001$ ). آنالیز بین‌گروهی نشان می‌دهد که کاهش



نمودار ۲- میزان دانسیته نورونی CA1 در گروه‌های مختلف ( $n = 6$ )

کاهش دانسیته نورونی در گروه ج نسبت به سایر گروه‌های تجربی معنادار است ( $P < 0/05$ ).

\*\*\* مقایسه گروه‌های تجربی با گروه کنترل را نشان می‌دهد ( $P < 0/001$ ).

& مقایسه بین گروه‌های تجربی را نشان می‌دهد ( $P < 0/05$ ).

آنالیز بین‌گروهی نشان می‌دهد که کاهش دانسیته نورونی در گروه ج نسبت به سایر گروه‌های تجربی نیز معنادار است ( $P < 0/05$ ).

آنالیز داده‌ها در جدول ۲ نشان می‌دهد که در تمام گروه‌های تجربی دانسیته نورونی نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است، ولی این کاهش فقط در گروه تجربی ج چشمگیر و معنادار است

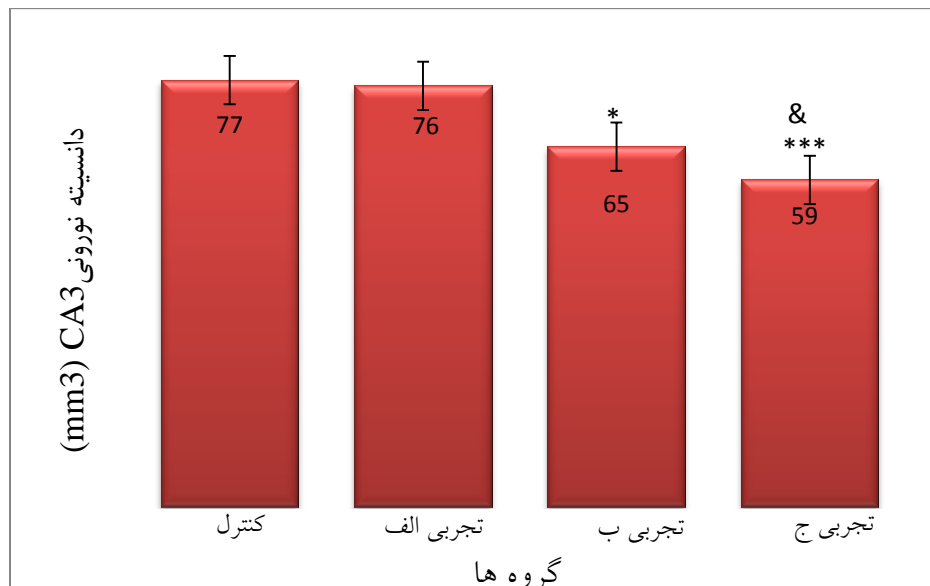
جدول ۲- میزان دانسیته نورونی CA2 در گروه‌های مختلف (n=۶)

گروه	Mean ± SE
کنترل	69 ± 3/06
گروه تجربی الف	65 ± 3
گروه تجربی ب	66 ± 1/3
گروه تجربی ج	50 ± 3/06

\*\*\* مقایسه گروه‌های تجربی با گروه کنترل را نشان می‌دهد (P < 0/001).

& مقایسه بین گروه‌های تجربی را نشان می‌دهد (P < 0/05).

آنالیز داده‌ها در نمودار ۳ نشان می‌دهد که در تمام گروه‌های تجربی دانسیته نورونی CA3 نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. این کاهش در گروه‌های تجربی ب (P < 0/05) و ج چشمگیر و معنادار است (P < 0/001). آنالیز بین گروهی نشان می‌دهد که کاهش دانسیته نورونی در گروه ج نسبت به سایر گروه‌های تجربی نیز معنادار است (P < 0/05). میانگین ± انحراف معیار دانسیته نورونی CA1 در گروه کنترل، گروه الف، گروه ب و گروه ج به ترتیب برابر 2/4 ± 0.77، 2/4 ± 0.76، 2/4 ± 0.65 و 2/4 ± 0.59 شد.



نمودار ۳- میانگین دانسیته نورونی CA3 در گروه‌های مختلف

کاهش دانسیته نورونی در گروه ج نسبت به سایر گروه‌های تجربی نیز معنادار است (P < 0/05).

\*\*\* مقایسه گروه‌های تجربی با گروه کنترل را نشان می‌دهد (P < 0/001)، (P < 0/05).

& مقایسه بین گروه‌های تجربی را نشان می‌دهد (P < 0/05).

جدول ۳: میزان دانسیته نورونی DG در گروه‌های مختلف (n=۶)

گروه	mean±SE
کنترل	87 ± 2/67
گروه تجربی الف	86 ± 2/67
گروه تجربی ب	84 ± 2/67
گروه تجربی ج	67 ± 2/67

\*\*\* مقایسه گروه‌های تجربی با گروه کنترل را نشان می‌دهد (P < 0/001).

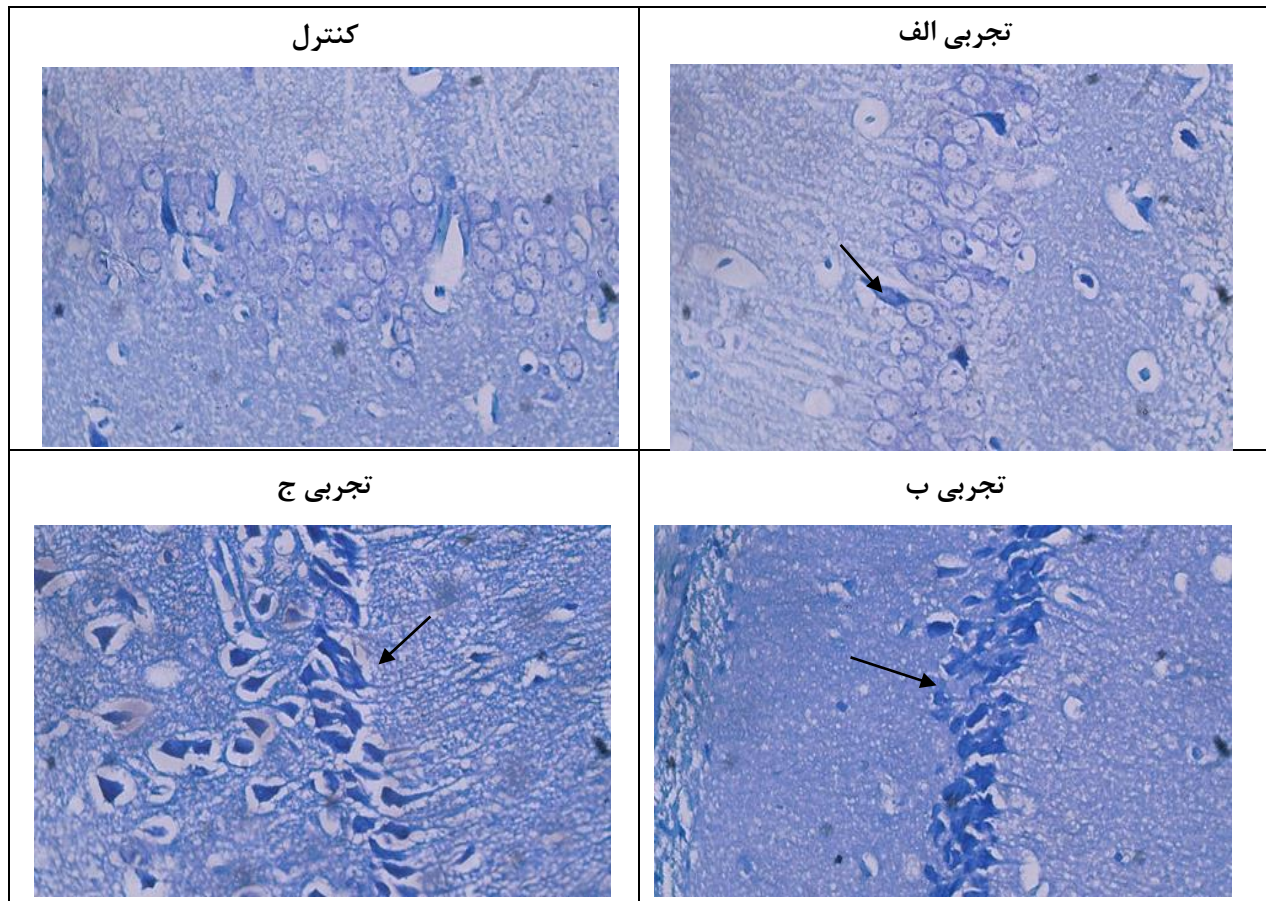
& مقایسه بین گروه‌های تجربی را نشان می‌دهد (P < 0/05).

آنالیز داده‌ها در جدول ۳ نشان می‌دهد که در تمام گروه‌های تجربی دانسیته نورونی DG نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است، اما این کاهش در گروه تجربی الف بسیار اندک و در گروه تجربی ب معنادار نیست. تنها در گروه‌های تجربی ج چشمگیر و معنادار است (P < 0/001). آنالیز بین گروهی نشان می‌دهد که کاهش دانسیته نورونی در گروه ج نسبت به سایر گروه‌های تجربی نیز معنادار است (P < 0/05).

**نتایج بررسی تغییرهای هیستولوژیکی بافت هیپوکامپ:**

چنانچه در شکل ذیل مشخص است در گروه تجربی ب و ج

مرگ نورونی به وضوح مشاهده می‌شود که شامل تغییر شکل سلول، تغییر شکل هسته و علائم التهاب است.



شکل ۱- منطقه CA1 هیپوکامپ در گروه‌های مختلف با رنگ آمیزی آبی تولوئیدین (X ۱۰۰). (فلش سلول‌های تخریب شده را نشان می‌دهد).

**بحث**

تحقیق نشان داد که میزان IL-6 و TNF- $\alpha$  در سرم خون گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش دارد ( $P < 0/001$ ). بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیکی، دی‌اکسید گوگرد (SO<sub>2</sub>) در تشدید بیماری‌های قلبی-ریوی، کاهش مقاومت سیستم ایمنی بدن در مقابل بیماری‌ها، از بین رفتن بافت ریه، آسم، مرگ‌ومیر زودرس و سرطان، بیماری‌های پیشرونده عصبی مانند آلزایمر، پارکینسون، ام‌اس، اختلال‌های شناختی و اوتیسم نقش عمده‌ای دارد (۱۱). به نظر می‌رسد یکی از عوامل اصلی در بروز این بیماری‌ها، التهاب است که به وسیله سایتوکاین‌ای التهابی میانجی‌گری می‌شود. قرار گرفتن افراد سالم در معرض آلودگی

هوا سبب گسترش التهاب از راه افزایش عوامل التهابی و تغییر در بیان سایتوکاین‌هایی مانند IL-6 و TNF- $\alpha$  می‌شود (۱۲). از طرف دیگر، بیان سایتوکاین‌های ضدالتهابی در هوای آلوده کاهش می‌یابد که خود زمینه‌ساز ابتلا به بسیاری از بیماری‌هاست (۱۳).

در مجموع، التهاب یکی از عوامل سببی در پاتولوژی بیماری‌های مزمن دستگاه عصبی مرکزی (CNS) است. از سوی دیگر، مطالعات اپیدمیولوژیکی و مشاهده‌ای نشان داده‌اند که آلودگی هوا می‌تواند از شایع‌ترین منابع محیطی ایجاد التهاب و استرس اکسایشی باشد که می‌تواند از طریق انواعی از مسیرهای سلولی، مولکولی و التهابی بر سیستم عصبی اثرگذار باشد و سبب آسیب

ساختاری مغز یا منجر به زمینه‌ای برای ایجاد بیماری‌های نورولوژیکی شود (۱۴). در بدن در پاسخ به آلودگی هوا تغییرهای پیچیده‌ای در سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها رخ می‌دهد که حجم و ساختار (CNS) را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به طوری که این بیومارکرها، ارتباط‌دهنده التهاب CNS و سیستمیک به اختلال‌های رشد مغزی و شناختی در کوتاه مدت و آسیب عصبی در طولانی مدت هستند. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که مواد آلوده‌کننده هوا از طریق مسیرهای مستقیم و غیرمستقیم بر سیستم عصبی مرکزی اثر می‌گذارند (۱۵).

مطالعات گذشته نشان دادند که دی‌اکسید گوگرد (SO<sub>2</sub>) با فعال‌سازی میکروگلیاها و آستروسیت‌ها سبب افزایش بیان پاسخ‌های التهابی می‌شوند (۱۶). سلول‌های اندوتلیال، میکروگلیا و آستروسیت‌های فعال شده در مغز، سایتوکاین‌های پیش التهابی TNF- $\alpha$ ، IL-1 $\beta$ ، IL-6 ترشح می‌کنند که این سایتوکاین‌ها به گیرنده‌شان در مغز متصل و به دنبال آن مسیرهای ثانویه فعال می‌شوند که در نهایت بر تنظیم ژن‌ها تأثیر گذارند (۱۷). همچنین نتایج دانسیته نورونی در تمام مناطق هیپوکامپ در گروه‌های تجربی کاهش نسبت به گروه کنترل نشان داد. این تغییر در گروه تجربی ج که برای سه هفته هر روز در معرض این گاز بوده‌اند خیلی بیشتر از سایر گروه‌های تجربی بود. مشخص شده که میکروگلیاها به دنبال شروع پاسخ‌های التهابی فعال می‌شوند. اگرچه که فعالیت میکروگلیا برای عملکرد نرمال مغز ضروری است، اما فعالیت طولانی‌مدت و اضافی آنها منجر به نروتوکسیستی می‌شود. سایتوکاین‌های پیش‌التهابی تولیدشده از جمله IL-6، TNF- $\alpha$  به سد خونی مغز آسیب می‌رسانند و یا چاشنی ایجاد مسیرهای سیگنالینگ هستند که منجر به فعال‌سازی MAP kinase و مسیرهای نسخه‌برداری فاکتور هسته‌ای NF- $\kappa$ B می‌شوند. فعال‌سازی این فاکتور سبب تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند IL-1 $\beta$ ، IL-6 و TNF- $\alpha$  می‌شود (۱۸). از طرفی سایتوکاین‌های موجود در گردش خون که در نتیجه التهاب سیستمیک ایجادشده ناشی از آلودگی هوا، در دیگر ارگان‌ها از جمله ریه افزایش می‌یابند،

سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی محیطی را تحریک کرده، نرون‌های آوران محیطی را فعال کرده و یا از طریق انتشار و انتقال فعال وارد مغز می‌شوند. از طرفی، التهاب مزمن ریه به دنبال در معرض هوای آلوده قرار گرفتن خود سبب التهاب مغز نیز می‌شود، زیرا در این شرایط افزایش سایتوکاین‌های در گردش مثل IL-1 $\beta$  و IL-6، TNF- $\alpha$  رخ می‌دهد. این سایتوکاین‌ها سبب افزایش بیان سیکلو اکسیژناز (COX2) 2 یک میانجی‌گر التهابی در عروق اندوتلیوم مغز می‌شوند (۱۹). بر اساس تحقیقات انجام شده قبلی بین غلظت بالای IL-6 و کاهش حجم هیپوکامپ و اختلال‌های افسردگی ابتلا به آلزایمر، نقصان شناختی و شرایط التهابی سیستمیک مزمن با افزایش خطر سکنه رابطه وجود دارد (۲۰). نتایج به دست آمده از این تحقیق نیز با این حقایق همراستا است به طوری که در گروه تجربی ج که بیشترین میزان IL-6 مشاهده شده دانسیته نورونی تمام مناطق هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل و سایر گروه‌های تجربی کاهش چشمگیر و معناداری داشته است. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که در گروه‌های تجربی که در معرض گاز دی‌اکسید گوگرد (SO<sub>2</sub>) قرار گرفته بودند میزان فاکتور، TNF- $\alpha$  در سرم افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل داشت. این داده با کاهش دانسیته نورونی در مناطق مختلف هیپوکامپ در این گروه‌ها نسبت به گروه کنترل همخوانی داشت. بنابراین به نظر می‌رسد بین میزان فاکتورهای التهابی ایجاد شده و مرگ نرون‌ها ارتباط مستقیمی وجود دارد. این یافته با مطالعات Szyszkowicz و همکاران که بیان کردند میان آلاینده‌های محیطی مانند ذرات معلق و SO<sub>2</sub> و ایجاد التهاب‌های مغزی و در نتیجه مرگ و میر ناشی از آن، ارتباط معناداری وجود دارد، همراستا است (۲۱). باوجود این تصور که التهاب نمی‌تواند عاملی آغازکننده در بیماری‌های نورودژنراتیو<sup>۱</sup> (NDD) باشد، مشخص شده است که وجود تعادل و نوسان بین علایم پیش التهابی و ضدالتهابی، تعیین‌کننده بروز یا عدم بروز پاسخ‌های التهابی در سیستم عصبی مرکزی است و در پیشرفت بیماری تعیین‌کننده است

<sup>1</sup>. Neurodegenerative Disease

## تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل بخشی از پایان نامه شماره ۲۳۴۶۷ خانم ارزو صادق نژاد برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته سلولی مولکولی از دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی مشهد بود. بدینوسیله از مدیریت گروه زیست‌شناسی سرکار خانم دکتر بشارت به خاطر همکاری‌های بی‌دریغ‌شان قدردانی می‌شود.

## تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافی را گزارش نکرده‌اند.

(۲۲). نتایج دانسیته نورونی نشان می‌دهد که در ناحیه ژيروس دندان‌های در گروه تجربی ج که سه هفته هر روز در معرض گاز قرار داشتند تعداد نورون‌ها کاهش چشمگیری نسبت به گروه کنترل و حتی سایر گروه‌های تجربی داشته است. کاهش تعداد نورون‌های سالم ژيروس دندان‌های هیپوکامپ از این جهت مهم است که این ناحیه یک مرکز تولید نورون در بالغین محسوب می‌شود. کاهش تعداد نورون‌های سالم به هر عللی که ایجاد شود از نظر بالینی مهم است زیرا که مقدمه بر افزایش بیماری‌های عصبی است و منجر به کاهش عمر مفید در انسان می‌شود (۲۳). میانگین تعداد نورون‌های ناحیه ساب کورتیکال ژيروس دندان‌های یکی از مراکز ذخیره تولید نورون در سیستم عصبی مرکزی بالغان است زیرا که حاوی سلول بنیادی نوروبلاست است که پس از طی کردن فرآیند تمایز به نورن‌های بالغ تبدیل می‌شوند (۲۴). Griffiths و همکاران در سال ۲۰۰۷ بیان کردند که IL-6، IL-1Ra، IL-2 و MIF بازیگران مهمی در پاتوژنز التهاب عصبی و التهاب سیستمیک مرتبط با مواجهه مزمن با غلظت‌های بالای آلاینده‌های هوا هستند، در حالی که افزایش غلظت PrPC مایع مغزی نخاعی می‌تواند به طور بالقوه نشان دهنده یک پاسخ محافظت کننده عصبی در برابر استرس اکسیداتیو باشد (۲۵). بنابراین به نظر می‌رسد که مرگ نورونی مناطق مختلف هیپوکامپ به دلیل افزایش تولید سایتوکاین‌های التهابی در جریان در معرض گاز دی‌اکسید گوگرد (SO<sub>2</sub>) قرار گرفتن است.

## نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که میزان IL-6، TNF- $\alpha$  در گروه‌های تجربی که در معرض گاز قرار گرفته بودند، افزایش یافت. همچنین دانسیته نورونی در تمام مناطق هیپوکامپ موش‌های گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل کمتر شد.

## ملاحظات اخلاقی

این مطالعه، در دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد بررسی و با کد اخلاق IR.IAU.MSHD.REC.1401.020 ثبت شده است.

## References

1. Calderón-Garcidueñas L, Franco-Lira M, Mora-Tiscareño A, Medina-Cortina H, Torres-Jardón R, Kavanaugh M. Early Alzheimer's and Parkinson's disease pathology in urban children: friend versus foe responses-it is time to face the evidence. *Biomed. Res. Int.* 2013;10.1155/2013/161687
2. Mansour Y, Blackburn K, González-González LO, Calderón-Garcidueñas L, Kulesza RJ. Auditory Brainstem Dysfunction, Non-Invasive Biomarkers for Early Diagnosis and Monitoring of Alzheimer's Disease in Young Urban Residents Exposed to Air Pollution. *J Alzheimers Dis.* 2019;67(4):1147-1155. doi: 10.3233/JAD-181186. PMID: 30741678.
3. Grassi-Oliveira R, Bauer M E, Pezzi J C, Teixeira A L, Brietzke E. Interleukin-6 and verbal memory in recurrent major depressive disorder. *Neuro Endocrinol. Lett.* 2011; 32, 540–544
4. Hu Z, Zhang X, Chen S, Zhu R, Ma X. [Impact of unfractionated heparin on serum and liver tissue expression of heparanase in the liver injury of mice with sepsis]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2017 Dec;29(12):1087-1091. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.12.007. PMID: 29216941.
5. Meng ZQ, Li RJ, Zhang X. Levels of sulfite in three organs from mice exposed to sulfur dioxide, *Inhal. Toxicol.*, 2005, vol. 17 (pg. 309-313).
6. Calderón-Garcidueñas L, Cross JV, Franco-Lira M, Aragón-Flores M, Kavanaugh M, Torres-Jardón R, et al. Brain immune interactions and air pollution: macrophage inhibitory factor (MIF), prion cellular protein (PrPC), Interleukin-6 (IL-6), interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra), and interleukin-2 (IL-2) in cerebrospinal fluid and MIF in serum differentiate urban children exposed to severe vs. low air pollution. *Frontiers in neuroscience.* 2013;7:183.
7. Diamantopoulos AP, Larsen AI, Omdal R. Is it safe to use TNF- $\alpha$  blockers for systemic inflammatory disease in patients with heart failure? Importance of dosage and receptor specificity. *Int J Cardiol.* 2013 Sep 1;167(5):1719-23. doi: 10.1016/j.ijcard.2012.11.112. Epub 2012 Dec 14. PMID: 23245690.
8. Chen P, Shibata M, Zidovetzki R, Fisher M, Zlokovic BV, Hofman FM. Endothelin-1 and monocyte chemoattractant protein-1 modulation in ischemia and human brain-derived endothelial cell cultures, *J. Neuroimmunol.* 2001; vol. 116 (pg. 62-73).
9. Keshvari M, Rahmati M, Mirnasouri R, Chehelcheraghi F. Effects of endurance exercise and *Urtica dioica* on the functional, histological and molecular aspects of the hippocampus in STZ-Induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology.* 2020;256:112801.
10. Yan Y-l, Lin L-r, Zeng K, Lin C-z, Liang M, Li Y-z. Effect of patient end-tidal carbon dioxide levels on cerebral regional oxygen saturation and inflammatory cytokine concentrations in elderly patients undergoing laparoscopic radical gastrectomy: a randomized controlled trial. *Signa Vitae.* 2022;18(6)
11. Chen Z, Liu N, Tang H, Gao X, Zhang Y, Kan H, et al. Health effects of exposure to sulfur dioxide, nitrogen dioxide, ozone, and carbon monoxide between 1980 and 2019: A systematic review and meta-analysis. *Indoor air.* 2022;32(11):e13170.
12. Lin Y, Jamison S, Lin W. (2012). Interferon- $\gamma$  Activates Nuclear Factor- $\kappa$  B in Oligodendrocytes through a Process Mediated by the Unfolded Protein Response. *Plos One*; 7(5): e36408
13. Wim S, De Boever Patrick BI, Luc IP. (2013). Neuroinflammation Induced by Air Pollution: Gene Expression Analysis in Laboratory Animals. Paper submitted within the scope of the Master's Thesis Master of Industrial Sciences GROUP T – Leuven Engineering College.
14. Cheng J, Tang Y, Cai X, Gong J. Long Noncoding RNAs Testis Development Related Gene 1 Aggravates Transforming Growth Factor- $\beta$ 1-Induced Fibrogenesis and Inflammatory Response of Cardiac Fibroblasts Via miR-605-3p/Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily-21 Axis. *Journal of Cardiovascular Pharmacology.* 2022;79(3):296-303.
15. Kandar CC, Sen D, Maity A. Anti-inflammatory potential of GSK-3 inhibitors. *Current Drug Targets.* 2021;22(13):1464-76.
16. Pardo CA, Farmer CA, Thurm A, Shebl FM, Ilieva J, Kalra S, Swedo S. Serum and cerebrospinal fluid immune mediators in children with autistic disorder: a longitudinal study. *Mol Autism.* 2017

Jan 5;8:1. doi: 10.1186/s13229-016-0115-7. PMID: 28070266; PMCID: PMC5217649.

17. Shaafi S, Ebrahimpour-Koujan S, Khalili M, Shamshirgaran SM, Hashemilar M, Taheraghdam A, et al. Effects of Alpha Lipoic acid supplementation on serum levels of oxidative stress, inflammatory markers and clinical prognosis among acute ischemic stroke patients: A randomized, double blind, TNS Trial. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2020;10(2):284.

18. Lin H, Dixon SG, Hu W, Hamlett ED, Jin J, Ergul A, et al. p38 MAPK is a major regulator of amyloid beta-induced IL-6 expression in human Microglia. *Molecular Neurobiology*. 2022;59(9):5284-98.

19. Jayaraj RL, Rodriguez EA, Wang Y, Block ML. Outdoor ambient air pollution and neurodegenerative diseases: the neuroinflammation hypothesis. *Current environmental health reports*. 2017;4:166-79.

20. Yan J, Liu J, Lin C Y, Anzgene A N, Csurhes P A, Pender M P, et al. Interleukin-6 gene promoter-572 C allele may play a role in rate of disease progression in multiple sclerosis. *Int. J. Mol. Sci*. 2012; 13, 13667–1367

21. Szyszkowicz M. Ambient air pollution and daily emergency department visits for ischemic stroke in Edmonton, Canada, *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*, 2008; vol. 21 (pg. 295-300).

22. Lin Y, Jamison S, Lin W. Interferon- $\gamma$  Activates Nuclear Factor- $\kappa$  B in Oligodendrocytes through a Process Mediated by the Unfolded Protein Response. *Plos One*. 2012; 7(5): e36408

23. Cai L, Bian M, Liu M, Sheng Z, Suo H, Wang Z, "et al", Ethanol-induced neurodegeneration in NRSF/REST neuronal conditional knockout mice, *Fei J, Neuroscience*. 2011; 181:196-205.

24. Goh KJ, Tian S, Shahrizaila N, Ng CW, Tan CT, Survival and prognostic factors of motor neuron disease in a multi-ethnic Asian population. *Amyotroph Lateral Scler*. 2011;12(2):124-9.

25. Griffiths M, Neal J W, Gasque P. Innate immunity and protective neuroinflammation: new emphasis on the role of neuroimmune regulatory proteins. *Int. Rev. Neurobiol*. 2007; 82, 29–55