

تأثیر کابریگولین بر روی سیمای بالینی و ایمونولوژیک در آرتریت روماتوئید القا شده در رت‌های نر ویستار

اسماعیل شفتالود، سید میثم ابطحی فروشانی^{*}، نوروز دلیرز

گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۰۹/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: به اثرات ضدالتهابی آگونیست‌های دوپامینی D2 در برخی از بررسی‌ها اشاره شده است. هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات تجویز کابریگولین (به عنوان آگونیست قوی گیرنده‌های D2) بر روی سیمای بالینی و پاسخ‌های ایمنی در آرتریت روماتوئید (RA) القا شده در رت‌های ویستار بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، جامعه مورد مطالعه شامل ۴۰ رأس رت نر ویستار با محدوده وزنی ۱۶۰ تا ۱۸۰ گرم بود. حیوان‌ها به صورت تصادفی در چهار گروه ۱۰ تایی شامل گروه کنترل (سالم)، گروه مبتلا به RA و درمان شده با PBS، گروه مبتلا و درمان شده با کابریگولین (۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم؛ خوراکی) و در نهایت گروه مبتلا درمان شده با پردنیزولون (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراکی) قرار گرفتند. تغییرات شدت بیماری و تغییرهای دما به صورت سه روز در میان ثبت گردید. کلیه درمان‌ها از روز هفتم پس از القا و مشاهده علائم التهاب کف پا در تمامی رت‌ها آغاز گردید. در انتها سرم رت‌ها به منظور سنجش سطوح نیتریک اکساید (شیوه گریس) و میلوپراکسیداز (ارزیابی توان احیای احیای پراکسید هیدورژن) جداسازی شد. سلول‌های طحالی نیز به منظور ارزیابی شدت تکثیر لنفوسیتی (به شیوه احیای MTT)، شدت انفجار تنفسی (به شیوه احیای NBT) و قابلیت فاگوسیتوز نوترال رد در شرایط استریل جدا شدند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری کروسکالوالیس و آنالیز واریانس یک طرفه و توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: کابریگولین به صورت برابر با پردنیزولون منجر به کاهش شدت بیماری و میزان ادم کف پا شد ($p=0/15$). درمان با هر دو تیمار موجب کاهش سطوح نیتریک اکساید ($p=0/0001$) و میلوپراکسیداز سرمی ($p=0/0001$)، شدت قابلیت انفجار تنفسی سلولهای فاگوسیت کننده طحال ($p=0/002$) و شدت تکثیر لنفوسیت‌های طحالی ($p=0/02$). در رت‌های تحت درمان نسبت به رت‌های مبتلا و بدون درمان شد. در مورد کاهش شاخص تکثیر لنفوسیتی پردنیزولون قوی‌تر از کابریگولین عمل نمود ($p=0/001$), در عوض کابریگولین به طور مؤثری موجب کاهش قابلیت انفجار تنفسی شد ($p=0/002$). همچنین کابریگولین در کاهش سطوح افزایش یافته برداشت رنگ نوترال رد در سلول‌های فاگوسیتیک طحالی در رت‌های مبتلا نسبت به پردنیزولون به طور معنی‌داری مؤثرتر عمل نمود ($p=0/01$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج مناسب مطالعه در مدل حیوانی، استفاده از داروی کابریگولین به عنوان یک رهیافت سودمند در کنترل بیماری RA در انسان مطرح می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آرتریت روماتوئید، کابریگولین، پردنیزولون، رت ویستار.

^{*} نویسنده مسئول: سید میثم ابطحی فروشانی، ارومیه، دانشگاه ارومیه، گروه میکروبی‌شناسی

Email: sm.abtahi@urmia.ac.ir

مقدمه

ایجاد التهاب می‌شوند که این التهاب مداوم باعث تخریب غضروف و استخوان از طریق تخریب اکسیداتیو و پروتئولیتیک کلاژن و پروتئوگلیکان‌ها می‌شود(۵).

آرتريت ناشی از تزریق آنتی‌ژن فروند کامل(CFA)^(۴) در رت‌های ویستار، یک مدل مناسب تجربی برای مطالعه آرتريت خودایمن است که نشان داده شده دارای ویژگی‌های بافت‌شناسی، ایمنی‌شناسی و بالینی با آرتريت روماتوئید انسان است و بنابراین در بسیاری از بررسی‌های اولیه جهت یافتن عوامل مؤثر در تخفیف و کنترل بیماری استفاده می‌شود(۶).

درمان‌های کنونی RA بر پایه استفاده از متوترکسات، گلوکوکورتیکوئیدها و ضد التهاب‌های غیراستروئیدی می‌باشد که تأثیرهای سوء بسیاری بر استخوان، معده، کلیه و دیگر اندام‌ها به خصوص در استفاده طولانی مدت، با دز بالا دارد، به طوری که مقوله درمان و جلوگیری از پیشرفت بیماری همچنان به عنوان یک چالش پیش رو مطرح می‌باشد. بنابراین یافتن راهکارهای مفیدتر جهت تعدیل پاسخ‌های ایمنی و به تبع آن دست یابی به برنامه درمانی مؤثر در افراد مبتلا به RA ضروری می‌باشد(۴ و ۲).

امروزه برخی از جنبه‌های جذاب ارتباط متقابل سیستم نورواندوکرین و سیستم ایمنی شناخته شده

آرتريت روماتوئید(RA)^(۱) یک بیماری التهابی مزمن با علت ناشناخته است که منجر به ساییدگی غضروف و استخوان شده و تأثیر شدیدی بر سلامت و کیفیت زندگی انسان دارد. با وجود پژوهش‌های جامع، علت دقیق RA هنوز معلوم نیست. میزان بروز آرتريت روماتوئید در جمعیت ۵ تا ۱۰ درصد است(۱). از لحاظ اپیدمیولوژیک زنان سه برابر بیشتر از مردان آسیب می‌بینند و ۸۰ درصد از بیماران در طول این بیماری بین ۳۵ تا ۵۰ سال سن دارند(۲ و ۳). گسترش و درگیر شدن سایر اعضای بدن به خصوص طحال، رگ‌های کرونر قلب و کلیه‌ها از جمله مهم‌ترین عوامل مرگ و میر بیماری RA محسوب می‌گردد(۴). سیمای آسیب‌شناسی بیماری به صورت هایپرپلازی غشای سینوویال و افزایش نفوذپذیری سلول‌های عروقی و التهابی، به ویژه لنفوسیت‌های TCD4⁺ مشخص می‌شود(۵). عامل شعله ور کننده بیماری هنوز ناشناخته است، ولی احتمالاً میکروب‌ها یا برخی از آنتی‌ژن‌های خودی پاسخ‌های خودایمن لنفوسیت‌های TCD4⁺ را شروع می‌کنند. فعال شدن سلول‌های ایمنی ذاتی به وسیله لنفوسیت‌های T از قبیل ماکروفاژها از جمله مهم‌ترین بازیگران ایجاد کننده پاتوژنز این بیماری می‌باشند(۱). همچنین سلول‌های TCD4⁺ فعال شده با آنتی‌ژن، سلول‌های B را برای تولید ایمونوگلوبولین‌ها، از جمله فاکتورهای روماتوئید(RF)^(۲) و آنتی‌بادی ضد هسته(ANA)^(۳)، تحریک می‌کنند و باعث تشکیل کمپلکس‌های ایمنی و

1-Rheumatoid Arthritis
2-Rheumatoid Faktor
3-Antinuclear Antibody
4-Collagen - Induced Arthritis

عنوان یک آگونیست قوی گیرنده‌های دوپامینی D2، به عنوان خط اول درمان هایپرپرولاکتینمی مطرح می‌باشد (۷ و ۱۰). به نحو جالب توجهی نشان داده شده است که افزایش سطح پرولاکتین در تشدید شرایط التهابی دخالت دارد (۷). بنابراین بر اساس گزارش‌های موجود، کابریگولین هم به صورت مستقیم و هم به واسطه کاهش اثرات پرولاکتین دارای اثرات ضدالتهابی می‌باشد. با این حال به نظر نمی‌رسد که تاکنون تحقیق جامعی بر روی اثرات احتمالی کابریگولین در مبتلایان به RA و یا مدل تجربی آن، بلاخص از دیدگاه ارزیابی تأثیرهای آن بر روی تعدیل پاسخ‌های ایمنی صورت گرفته باشد، لذا در این تحقیق بر آن شدیم که به بررسی اثرهای کابریگولین در کاهش احتمالی علائم در مدل رتی روماتوئید آرتروز بپردازیم.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، جامعه مورد مطالعه شامل ۴۰ راس رت نر ویستار با محدوده وزنی (120 ± 5) گرم بود که از حیوان خانه دانشکده دامپزشکی خریداری شد. حیوانات در شرایط استاندارد آب، غذا، دما و نور کافی بر اساس پروتکل‌های بین‌المللی استفاده از حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند. کلیه مراحل تحقیق با کد اخلاق ۴۲۹/پد/۳ به تأیید کمیته اخلاق پژوهشی

است. دوپامین (DA)^(۱)، یک انتقال‌دهنده عصبی در سیستم عصبی مرکزی (CNS)، در سیستم ایمنی یافت شده است و پنج گیرنده (DRD1 تا DRD5) شناسایی شده است که گیرنده‌های ۱ و ۵ به گیرنده‌های D1 و گیرنده‌های ۲، ۳ و ۴ به گیرنده‌های D2 تعلق دارند (۷-۹). در همین راستا مشخص شده است که گیرنده‌های پاسخ‌گو به دوپامین، در سطح بسیاری از سلول‌های ایمنی از قبیل لنفوسیت‌های B و T دندریتیک، سلول‌های کشنده طبیعی، نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها، مونوسیت‌ها و سلول‌های دندریتیک حضور دارند و بدین ترتیب موجب تعدیل پاسخ‌های ایمنی می‌شوند (۹). بر همین اساس دخالت دوپامین و گیرنده‌های آن در موارد سرطان و خود ایمنی و سرطان در منابع مختلف اشاره شده است (۷). به طور جالب توجهی نشان داده شده است که برخی از سلول‌های دستگاه ایمنی قادر به تولید و ذخیره‌سازی دوپامین در وزیکول‌های ترشحی خود می‌باشند. این سلول‌ها به دنبال تحریک، دوپامین را در محل واکنش‌های ایمنی آزاد می‌کنند (۸ و ۷). کابریگولین که در درمان هایپرپرولاکتینمی، کنترل بیماری پارکینسون، آکرومگالی و درمان سندرم کوشینگ مصرف می‌شود از جمله آگونیست‌های قوی گیرنده‌های دوپامینی D2 می‌باشد. اخیراً به اثرات ضد التهابی کابریگولین در کاهش التهاب در بیماری التهابی روده اشاره شده است (۱۰). در عین حال مشخص شده است دوپامین از طریق گیرنده‌های D2 قادر به مهار ترشح پرولاکتین از غده هیپوفیز می‌باشد. به همین دلیل کابریگولین، به

1-Dopamine

رت‌ها از آغاز مطالعه هر هفته به مدت ۴ هفته به طور دقیق به وسیله حداقل دونفر از لحاظ تورم مفاصل مورد ارزیابی قرار گرفتند. جهت ارزیابی کف دست و پای رت‌ها از مقیاس پنج درجه‌ای زیر استفاده شد؛ صفر: عدم وجود التهاب و ادم، ۱: ادم جزئی و التهاب مختصر، ۲: ادم جزئی و التهاب مختصر که تا مفاصل تارس یا کارپ کشیده شود، ۳: ادم و التهاب متوسط که تا مفاصل تارس یا کارپ کشیده شود و ۴: ادم و التهاب شدید که کل اندام حرکتی را درگیر کند. شاخص آرتريت برای هر رت حاصل جمع ارزیابی هر چهار دست و پای حیوان بود، به صورتی در شدیدترین حالت نمره ۱۶ به حیوان تعلق می‌گرفت (۱۳).

۲۸ روز بعد از ایمن‌سازی و پس از خون‌گیری از رت‌ها، طحال آنها تحت شرایط استریل خارج شد. سپس بافت طحال در ۵ میلی‌لیتر محیط (RPMI-1640 ایالات متحده؛ Sigma) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS)^(۱) (Gibco؛ آلمان) قطعه قطعه و له شده و از توری سیمی به قطر ۰/۰۲ میلی‌لیتر عبور داده شد و سوسپانسیون سلولی حاصل، به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. روی رسوب سلولی حاصل ۵ میلی‌لیتر بافر لیز کننده RBC افزوده شد. پس از ۵ دقیقه، با افزودن ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت طراحی شده توسط موسسه مورریال رزول پارک (RPMI)^(۲) (Gibco؛ آلمان) دوباره ۱۰ دقیقه در

1-Fetal bovine serum (FBS)
2- Roswell Park Memorial Institute (RPMI)

دانشکده دامپزشکی رسید. پس از طی یک هفته جهت تطابق رت‌ها، حیوانات به صورت تصادفی و به ترتیب زیر تقسیم شدند؛ گروه شاهد سالم شامل ده رت سالم بودند که تحت هیچ تیماری قرار نگرفت. این رت‌ها همزمان با حیوانات گروه مبتلا، دارونما (فسفات بافر سالین (PBS)) دریافت نمودند. سایر حیوانات پس از القاء بیماری RA در آنها، به صورت تصادفی و به صورت زیر تقسیم شدند. گروه شاهد مبتلا؛ رت‌های این گروه از روز هفتم بعد از ایمن‌سازی (روز آغاز تورم در مفصل کف پا) به صورت روزانه و خوراکی بافر PBS دریافت نمودند. گروه مبتلا و تحت درمان با کابریگولین؛ از روز هفتم بعد از ایمن‌سازی به صورت روزانه و خوراکی تحت درمان با کابریگولین (۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم داروسازی ابوریحان ایران) قرار گرفتند. گروه مبتلا و تحت درمان با پردنیزولون؛ از روز هفتم بعد از ایمن‌سازی به صورت روزانه و خوراکی تحت درمان با پردنیزولون (۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم، داروسازی ابوریحان- ایران) قرار گرفتند. انتخاب دوز کابریگولین و پردنیزولون بر مبنای مطالعات قبلی در مدل‌های التهابی در رت‌های ویستار بود (۱۰ و ۱۱). کلیه درمان‌ها از روز هفتم بعد از ایمن‌سازی شروع و تا روز ۲۸ بعد از ایمن‌سازی ادامه یافت.

جهت القای RA در رت‌های ویستار، ۰/۱ میلی‌لیتر ادجوانت کامل فروند (Sigma Aldrich - آمریکا) محتوی ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پیکره کشته میکوباکتریوم به قانده دم رت‌ها تزریق شد (۱۳ و ۱۲).

فاگوسیتیک را مشخص می‌کند (۱۷). به طور خلاصه، پس از شمارش سلول‌های طحالی، سوسپانسیون به تعداد 2×10^6 سلول در هر میلی‌لیتر تهیه گردید. این سلول‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با تترادکانوئیل فوربول استات (TPA)^(۱) و محلول یک دهم درصد نیتروبلوتترازولیوم (NBT)^(۲)، سیگما؛ آمریکا) انکوبه شدند. در نهایت با دوبر شستشو NBT خارج سلولی حذف شده و NBT داخل سلول‌ها به وسیله دیگوکسین استخراج شد (۱۷):

به طور خلاصه در هر پلیت ۹۶ خانه به مقدار 200 میکرولیتر از سوسپانسیون سلول‌های طحالی (2×10^6 سلول در هر میلی‌لیتر) به همراه 20 میکرولیتر از محلول قرمز خنثی (NR)^(۳) ($2/3$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) افزوده و به مدت ۴ ساعت در 37 درجه انکوبه گردید. پس از شستشوی سلول‌ها به منظور حذف رنگ موجود در محیط خارجی، 200 میکرولیتر محلول اسید استیک گلاسیال - اتانول (اسیداستیک ۱ درصد و اتانول ۵۰ درصد) به هر چاهک اضافه و شیک گردید. آنگاه پلیت‌ها در طول موج 630 نانومتر به وسیله دستگاه الیزاریدر خوانده شدند (۱۷).

سطح نیتریک اکسید سرمی به وسیله روش رنگ‌سنجی گریس (Griess) و استفاده از منحنی استاندارد نیتريت سدیم تعیین گردید. به طور خلاصه، با توجه به ناپایداری نیتریک اکساید، پس از اخذ سرم

دور 3000 سانتریفیوژ گردید. سپس رسوب سلولی در محیط کشت حاوی 10 درصد FBS به حالت سوسپانسیون درآمد. به دنبال شمارش سلول‌ها، سوسپانسیون حاوی $10^6 \times 1$ سلول در هر میلی‌لیتر تهیه شد و 100 میکرولیتر از آن در هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای ته تخت ریخته شد. سلول‌ها در حضور 50 میکرولیتر از محلول فیتوهمگلوتینین (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به مدت 72 ساعت کشت شدند (۱۵ و ۱۴). برای هر نمونه سه تکرار در حضور محلول فیتوهمگلوتینین و سه تکرار بدون حضور فیتوهمگلوتینین در نظر گرفته شد. به عنوان بلانک نیز در سه چاهک از محیط RPMI خالی استفاده شد. بعد از 72 ساعت انکوباسیون به هر چاهک 25 میکرولیتر محلول ۳- (۴، ۵، دی‌متیل‌تيازول ۲- ایل) - $5, 2$ دی‌فنیل‌تترازولیوم (MTT)^(۱) (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در PBS) افزوده شده، به مدت ۴ ساعت دیگر گرم‌خانه‌گذاری گردید. در این مدت احیاء ماده MTT (۳- (۵، ۴- دی‌متیل‌تيازول ۲- ایل) - ۵، ۲- دی‌فنیل‌تترازولیوم بروماید) به وسیله سلول‌های زنده و در حال تکثیر سبب تشکیل کریستال‌های فورمازون گردید که با افزودن 100 میکرولیتر DMSO به حالت محلول درآمد. سپس شدت رنگ در طول موج 490 نانومتر تعیین و ایندکس تحریک بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (۱۶):

$$\text{بلانک OD} - \text{در حضور ODPHA} = \text{اندکس تحریک} \\ \text{بلانک OD} - \text{در عدم حضور ODPHA}$$

تست احیای NBT قابلیت تولید رادیکال‌های

آزاد اکسیژن بالقوه آسیب رسان به وسیله سلول‌های

1-(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl))-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT)
2-Tetradecanoylphorbol Acetate (TPA)
3-Nitro Blue Tetrazolium (NBT)
4-Neutral Red (NR)

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری کروسکالوالیس و آنالیز واریانس یک طرفه و توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

کلیه رت‌ها در ظرف ۷ روز پس از تزریق ادجوانت کامل فروند علایم آرتریت از قبیل تورم، قرمزی و محدودیت حرکتی را نشان دادند (نمودار ۱). با توجه به نمودار ۴-۱ هر دو گروه تیمار با کابریگولین و پردنیزولون کاهش تورم مفصل را نشان دادند، به طوری که از روز ۲۱ پس از القای این روند کاهش تورم در گروه‌های تیمار شده با کابریگولین و پردنیزولون و گروه RA بدون تیمار معنی‌دار بود ($p < 0.05$). با این حال تغییرات شدت علایم در روز آخر هم بین دو گروه دریافت کننده کابریگولین و پردنیزولون در سطح $p < 0.05$ معنی‌دار نبود (نمودار ۱). ماده MTT به وسیله لئوسیت‌ها برداشت شده و بر اثر فعالیت میتوکندریایی سلول‌های لئوسیت به کریستال‌های آبی رنگ فورمازون تبدیل می‌گردد، بنابراین میزان احیای MTT به کریستال‌های فورمازون شاخصی از قابلیت تکثیر لئوسیت‌ها را بیان می‌کند. با توجه به نمودار ۲ در موش‌های مبتلا به آرتریت روماتوئید نسبت به گروه سالم میزان تکثیر لئوسیتی افزایش یافت. در اینجا نیز هر دو درمان در کاهش

از رت‌های مورد مطالعه به سرعت، ۱۰۰ میکرولیتر از سرم به صورت دوتایی به داخل چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای ته تخت ریخته شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۱ درصد سولفانیل آمید (شرکت Sigma - آمریکا) به چاهک‌ها اضافه شد. پلیت به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و درجه حرارت اتاق نگهداری شد. سپس به تمام حفره‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۱ درصد N-۱- نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید (شرکت Sigma، آمریکا) اضافه شد و بار دیگر به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و درجه حرارت اتاق انکوبه شدند. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر به وسیله دستگاه الیزا نگار خوانده شد. در عین حال با استفاده از غلظت‌های مختلف نیتريت سدیم منحنی استاندارد ترسیم شده و از طریق رگرسیون و معادله خطی، غلظت نیتريت موجود در نمونه‌ها تعیین گردید (۱۸).

به طور خلاصه ۱۰ میکرولیتر از سرم خون با ۸۰ میکرولیتر از پراکسید هیدروژن (۰/۷۵ میلی‌مولار) و ۱۱۰ میکرولیتر از محلول تترامتیل بنزیدین (TMB)^(۱) (۲/۹ میلی‌مولار) که در محیط حاوی در ۱۴/۵ درصد دی‌متیل سولفوکساید حل شده در بافر فسفات (۱۵۰ میلی‌مولار و $PH=5/4$) تهیه شده بود، مخلوط شد. در ادامه پلیت به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه نگهداری شده و واکنش با افزودن ۵۰ میکرومول از محلول ۲ مولار اسیدسولفوریک به هر چاهک متوقف شد. سپس نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر به وسیله الیزا نگار خوانده شد (۱۹).

1-Tetramethylbenzidine (TMB)

بیشتر بود (نمودار ۳-ب).

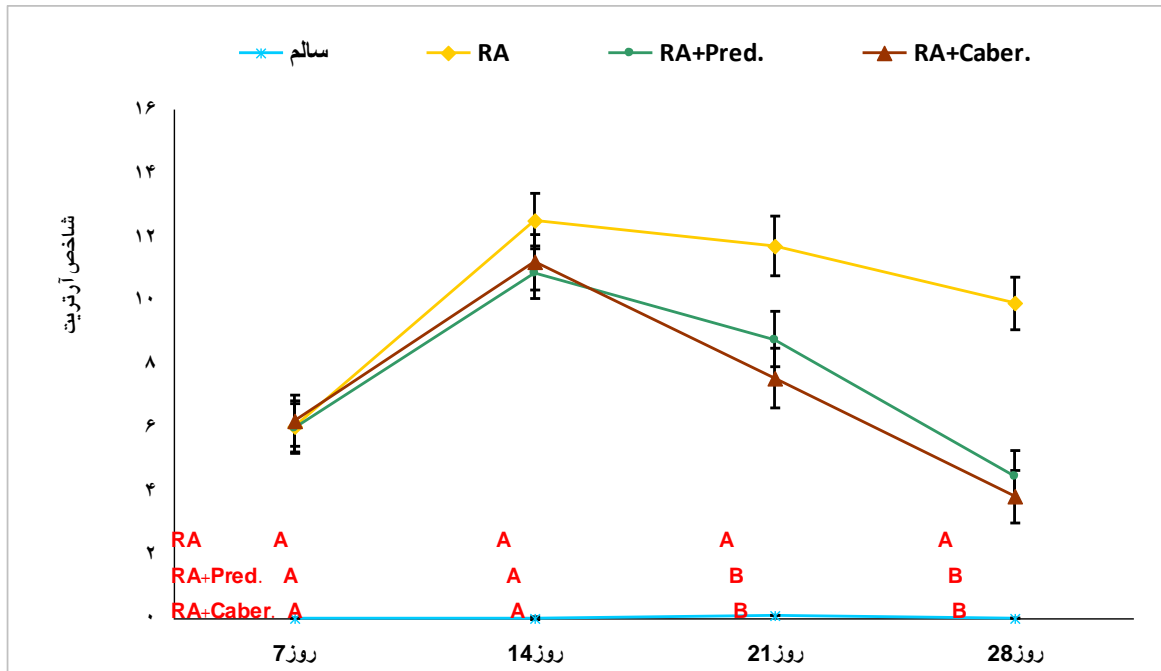
ابتلا رت‌ها به بیماری آرتریت روماتوئید موجب افزایش سطح تولید نیتریک اکساید در سرم مبتلایان به آرتریت روماتوئید نسبت به رت‌های سالم شد (نمودار ۳-ج). میزان تولید نیتریک اکساید در سرم در هر دو گروه تیمار (کابریگولین و پردنیزولون) نسبت به گروه RA درمان نشده کاهش یافت. با این حال تفاوت معنی‌داری بین دو گروه یاد شده از این نظر وجود نداشت (نمودار ۳-د).

آنزیم میلوپراکسیداز از جمله آنزیم‌های کلیدی در تولید واسطه‌های فعال اکسیژن می‌باشد و از آنجایی که تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش مهمی در ایجاد و گسترش آسیب در بیماری آرتریت روماتوئید دارد، به همین منظور سطح فعالیت این آنزیم در این مطالعه اندازه‌گیری شد. بیماری آرتریت روماتوئید موجب افزایش سطح تولید میلوپراکسیداز در سرم رت‌های مبتلا به آرتریت روماتوئید نسبت به رت‌های سالم شد (نمودار ۳-د). تیمار رت‌های مبتلا با هردو داروی کابریگولین و پردنیزولون نسبت به گروه RA درمان نشده باعث کاهش میزان تولید این آنزیم شدند، با وجود این اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) بین گروه‌های تیمار شده با هردو دارو (کابریگولین و پردنیزولون) از نظر تولید آنزیم میلوپراکسیداز وجود ندارد (نمودار ۳-د).

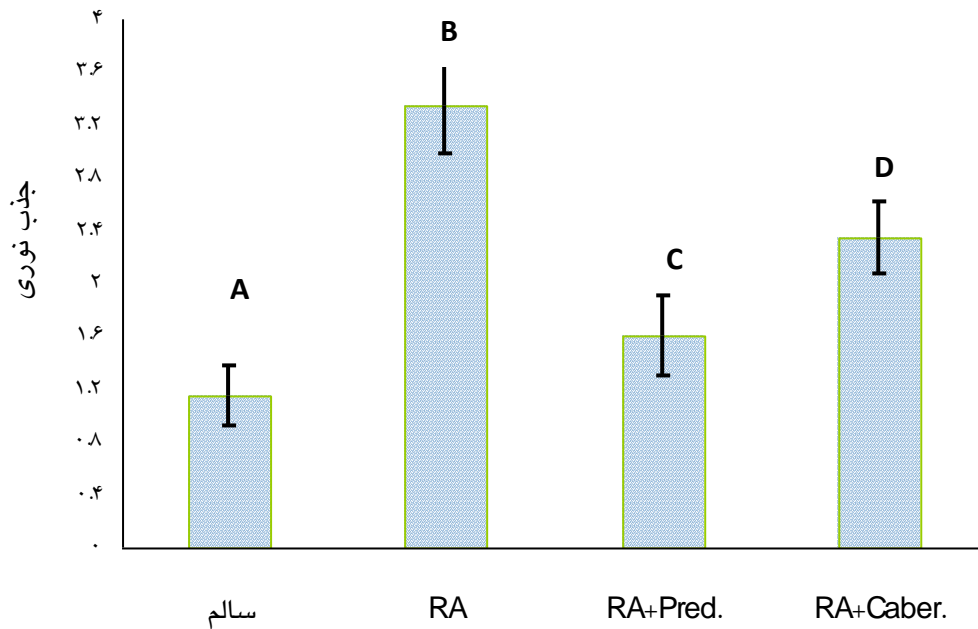
شدت تکثیر لنفوسیتی موثر بودند، با این حال شدت تکثیر لنفوسیتی در گروه تحت درمان با پردنیزولون نسبت به کابریگولین بیشتر بود (نمودار ۲).

با توجه به نمودار ۳-الف بیماری روماتوئید آرتریت موجب افزایش معنی‌داری در سطح برداشت رنگ نوترال رد در سلول‌های فاگوسیتیک طحال در رت‌های مبتلا شد. هر دو تیمار در کاهش این سطح موفق بودند، با این حال درمان با کابریگولین نسبت به پردنیزولون موجب مهار بیشتری در میزان برداشت نوترال رد به وسیله سلول‌های فاگوسیتیک در رت‌های مبتلا به روماتوئید آرتریت شد، به طوری که درمان با کابریگولین سطح میزان برداشت نوترال رد را به حد سطح برداشت نوترال در موش‌های سالم رساند (نمودار ۳-الف).

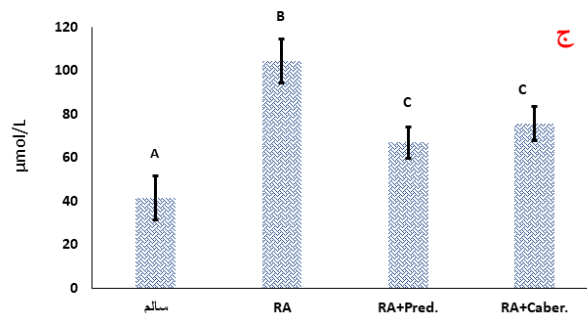
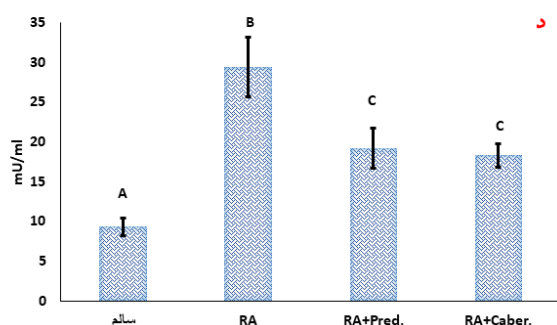
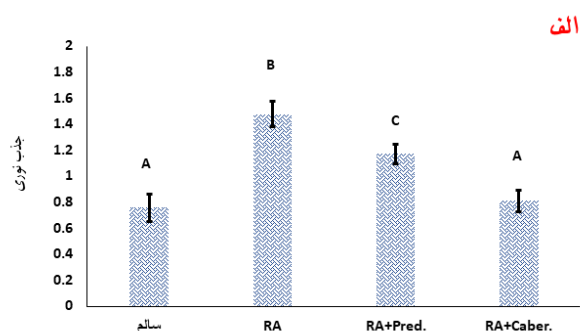
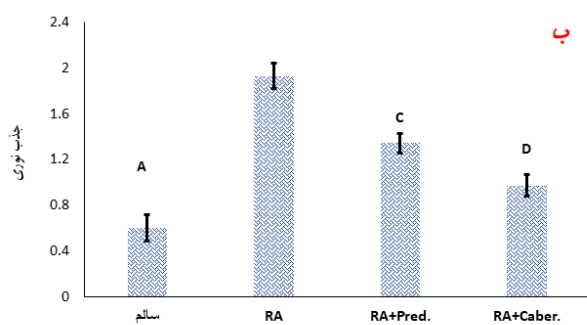
قابلیت تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن به وسیله سلول‌های فاگوسیتیک طحالی در رت‌های مبتلا به روماتوئید آرتریت، به صورت قابل توجهی نسبت به موش‌های سالم افزایش می‌یابد (نمودار ۳-ب). با توجه به نمودار ۳-ب هر دو تیمار کابریگولین و پردنیزولون موجب کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن به وسیله سلول‌های فاگوسیتیک طحال در موش‌های مبتلا به RA درمان نشده گردید، ولی این کاهش در گروه تیمار شده با کابریگولین نسبت به گروه تیمار شده با پردنیزولون به طور معنی‌داری



نمودار ۱: مقایسه شاخص آرتريت در رت‌های مبتلا به روماتوئید آرتريت. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $p < 0.05$ می‌باشد (کابرگولین=Caber، پردنیزولون=Pred، روماتوئید آرتريت=RA)



نمودار ۲: مقایسه گروه‌های مختلف از نظر تکثیر لنفوسیت‌های طحالی در پاسخ به میتوزن فیتوهمگلوتینین. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $p < 0.05$ می‌باشد (کابرگولین=Caber، پردنیزولون=Pred، روماتوئید آرتريت=RA).



نمودار ۳: ارزیابی تغییرات سلول‌های ایمنی ذاتی در رت‌های مبتلا به روماتوئید آرتریت. الف) سطح برداشت نوترال رد در جمعیت فاگوسیت‌های طحالی، ب) سطح انفجار تنفسی در جمعیت فاگوسیت‌های طحالی، ج) میزان تیتریک اکساید سرمی، د) میزان فعالیت میوپراکسیداز سرمی. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $(p < 0.05)$ می‌باشد (کابریگولین=Caber، پردنیزولون=Pred، روماتوئید آرتریت=RA)

بحث

پس از القای بیماری و نشان دادن علائم درمانگاهی (تورم مفصل) اقدام به درمان کلیه رت‌های مبتلا نمودیم. بر اساس یافته‌های به دست آمده به نظر می‌رسد گروه درمان با کابریگولین توانسته است که موجبات کاهش قابل توجه مهم‌ترین علائم بالینی در آرتریت روماتوئید القایی با ادجوانت که همان ادم و تورم ناحیه بالشتک کف پای است، به صورت قابل مقایسه با دوز به کار رفته پردنیزولون فراهم آورد. پژوهش‌های انجام شده در طی سالیان اخیر نشان داده است که دوپامین و گیرنده‌های آن به عنوان یک تنظیم‌کننده اصلی التهاب مطرح است. در همین راستا نشان داده شده است که تحریک گیرنده‌های دوپامینی

با وجود پیشرفت‌های قابل توجه در امر کنترل بیماری آرتریت روماتوئید، بسیاری از بیماران به درمان‌های رایج پاسخ مناسبی نمی‌دهند (۲ و ۴). در عین حال، بر اساس گزارش‌های موجود، کابریگولین دارای اثرات ضدالتهابی می‌باشد (۱۰)، لذا هدف از این تحقیق تأثیر کابریگولین بر روی سیمای بالینی و ایمونولوژیک در آرتریت روماتوئید القا شده در رت‌های نر ویستار بود.

به طور معمول درمان بیماری‌های خود ایمن پس از استقرار بیماری و نشان دادن علائم درمانگاهی در فرد مبتلا صورت می‌پذیرد (۲۰). در این مطالعه نیز

نوتروفیل‌ها به ناحیه ملتهب می‌شوند (۲۳). چنین ساز و کارهایی را نیز می‌توان در توجیه تحقیق حاضر در مورد تخفیف علائم RA در نظر گرفت. با این حال در این تحقیق ما یک سری از سازوکارهای جدیدتر را به شرحی که در زیر خواهد آمد در مورد اثرات ضد التهابی کابریگولین بررسی نمودیم.

تاکنون داروهای زیادی با اثرات ضد تکثیر لنفوسیتی از قبیل گلوکوکورتیکوئیدها، آزاتیوپرین و سیکلوفسفامید جهت کنترل RA استفاده شده است. این ترکیب‌ها دارای اثرات جانبی فراوانی از قبیل تضعیف شدید سیستم ایمنی و افزایش حساسیت به عفونت‌ها و بدخیمی‌ها هستند (۳ و ۲). در مطالعه حاضر یافته‌های حاصل از تست MTT پس از تحریک لنفوسیت‌ها با میتوزن PHA نشان داد که کابریگولین با وجود اثرات برابر با پردنیزولون در جهت کاهش التهاب و ورم مفاصل، به طور معنی‌داری موجب کاهش کمتری در قدرت تکثیری لنفوسیت‌ها و ایجاد اثرات ایمنوساپرسیو نسبت به پردنیزولون شد که این خود یک مزیت فوق‌العاده عالی می‌باشد.

پژوهش‌های قبلی نشان داده است که سطح فعالیت نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌های خون محیطی در افراد مبتلا به روماتوئید آرتریت نسبت به افراد سالم بیشتر می‌باشد که به دلیل سایتوکاین‌های التهابی و اتوانتی‌بادی‌های سیترولینه کمپلکس شده با آنتی‌ژن‌های خودی از قبیل کلاژن در خون محیطی می‌باشد (۲۵). ثابت شده است فعال شدن فاگوسیت‌ها در افراد مبتلا به RA قبل از مهاجرت آن‌ها به ناحیه

با تمایل کم، شامل DRD1 و DRD2، به مکانیزم‌های ضد التهابی منجر می‌شود، درحالی که ارسال پیام از طریق گیرنده‌های دوپامینی با تمایل بالا شامل DRD3 و DRD5 به طور مداوم التهاب را افزایش می‌دهند (۲۱). مطالعات انجام شده بر روی سلول‌های T انسانی و موشی نشان می‌دهد که تحریک گیرنده‌های DRD1 باعث کاهش عملکرد سلول‌های T به وسیله افزایش سطح cAMP داخل سلولی می‌شود، به عنوان مثال؛ تحریک گیرنده‌های DRD1 و DRD2 تمایز سلول Treg را افزایش داده و باعث کاهش تمایز سلول‌های TCD4⁺ به سمت سلول Th17 می‌شود (۷-۹). کابریگولین که در این تحقیق استفاده شد، در زمره آگونیست‌های قوی گیرنده DRD2 قرار دارند (۱۰). از آنجا که بر هم خوردن تعادل سلول‌های Treg و Th17 در اختلالات خودایمنی از قبیل RA نقش اصلی را بازی می‌کند (۲۲)، بنابراین احتمال دارد با چنین سازوکاری کابریگولین در کاهش شدت علائم بیماری RA مؤثر بوده است. همچنین نشان داده شده است که در آگونیست‌های گیرنده DRD2 از طریق تداخل در مسیرهای سیگنال دهی NF- κ B و Akt موجب کاهش التهاب در پانکراتیت حاد شده‌اند (۲۳). کاهش سطح سایتوکاین‌های التهابی از قبیل IL-17، IL-1 β و TNF- α هم‌زمان با کاهش علائم به دنبال استفاده از pramipexole (از جمله آگونیست‌های گیرنده DRD2) در مدل تجربی اسکروز متعدد گزارش شده است (۲۴). همچنین مشخص شده است که آگونیست‌های گیرنده DRD2 از طریق کاهش بیان CCL2 و CXCL2 موجب کاهش فراخوانی ماکروفاژها و

سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و دیگر مشتقات واکنش‌گر اکسیژن می‌شود که همه آن‌ها برای میکروب‌ها سمی هستند (۱۵). در کنار این گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS)، تولید واسطه‌های نیتروژن از قبیل نیتریک اکساید نقش مهمی در از بین بردن میکروارگانیسم‌های مهاجم به وسیله فاگوسیت‌ها بازی می‌کنند با وجود این، هنگامی که تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن بیش از حد و یا نامناسب باشد، این گونه‌های واکنش‌گر در آسیب شدید بافت میزبان درگیر هستند و در شرایط ایمنوپاتولوژی مشارکت دارند (۱). بر اساس نتایج حاضر قابلیت تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن به وسیله سلول‌های طحالی در رت‌های مبتلا به روماتوئید آرتریت، به صورت قابل توجهی نسبت به موش‌های سالم افزایش می‌یابد. در این زمینه به نظر می‌رسد که درمان با کابریولین نسبت به گروه تیمار شده با پردنیزولون به طور معنی‌داری در کاهش انفجار تنفسی و قابلیت تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن موفق‌تر عمل نموده است.

پژوهش‌های متعدد نشان داده است که در بیماری RA، نیتریک اکساید به وسیله فیبروبلاست‌ها، سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های التهابی موضعی مفاصل ملتهب، به شدت بیان می‌شود. به نحو جالب توجهی نمونه‌های سرم و مایع سینوویال بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید، افزایش تشکیل نیتریک اکسید را نشان داده‌اند (۲۸ و ۲۷). هم‌چنین نشان داده

سینوویال رخ می‌دهد (۲۶ و ۱). تست برداشت نوترال رد در این مطالعه نیز جهت ارزیابی سطح فعالیت فاگوسیت‌ها استفاده شد. نوترال رد یک رنگ کاتیونی است که سلول‌های فاگوسیت‌کننده آن را برداشته و در لیزوزوم‌های آنها ذخیره می‌گردد. میزان برداشت این رنگ به وسیله فاگوسیت‌ها به عنوان شاخصی از سطح فعالیت کلی غشایی و لیزوزومی فاگوسیت‌ها در نظر گرفته می‌شود (۱۷). همان‌طور که انتظار می‌رفت ابتلا به بیماری روماتوئید آرتریت موجب افزایش معنی‌داری در سطح برداشت رنگ نوترال رد در سلول‌های فاگوسیتیک طحال شد. کابریولین نسبت به پردنیزولون موجب مهار بیشتری در میزان برداشت نوترال رد به وسیله سلول‌های فاگوسیتیک در رت‌های مبتلا به روماتوئید آرتریت شد، به طوری که با کابریولین سطح میزان برداشت نوترال رد (فعالیت فاگوسیت‌ها) را به حد موش‌های سالم رساند. با توجه به عدم کاهش سطح برداشت نوترال رد از حد طبیعی، باز هم این نتایج حاکی از عدم وجود اثرات ایمنوساپرسیو برای کابریولین می‌باشد.

در واکنش‌های ازدیاد حساسیت نوع سوم از قبیل؛ آرتریت روماتوئید، کمپلکس‌های ایمنی تشکیل شده ناشی از پادتن‌ها و تثبیت کمپلمان موجب فراخوانی سلول‌های فاگوسیتیک و تولیدکننده رادیکال‌های آزاد بالقوه آسیب‌رسان به بافت می‌گردند (۱). هنگامی که فاگوسیت‌ها در طول فاگوسیتوز فعال می‌شوند، تحت فرآیندی به نام انفجار تنفسی^(۱) قرار می‌گیرند که در طی این فرآیند

1-Respiratory Burst

در بررسی‌های انجام شده افزایش سطح پرولاکتین در خون و هم‌چنین مایع مفصلی در مبتلایان به RA نشان داده شده است. به خوبی مشخص شده است که افزایش سطح پرولاکتین در این بیماران با تشدید علایم بیماری همراه است (۳۳). پرولاکتین علاوه بر تولید در غده هیپوفیز به وسیله انواع سلول‌های ایمنی از قبیل ماکروفاژها، لنفوسیت‌های B و T نیز در طی واکنش‌های ایمنی تولید می‌گردد. در این شرایط پرولاکتین از طریق اتوکراین یا پاراکراین موجب تشدید تولید واسطه‌های التهابی در مبتلایان به RA می‌شود (۳۴ و ۳۳). در این زمینه محتمل است که کابریگولین به عنوان یک آگونیست قوی گیرنده‌های دوپامینی D2 با مهار تولید پرولاکتین به وسیله سلول‌های ایمنی، در کنار اثرات مستقیم خود موجب کاهش علایم بیماری RA را فراهم دارد. در یک گزارش جالب نشان داده شده است که در خانم ۴۴ ساله مبتلا به RA شدید به همراه کابریگولین استفاده از کابریگولین در کاهش شدت بیماری مؤثر بوده است (۳۴).

در نهایت با توجه به نتایجی که در این مطالعه به دست آمد، به نظر می‌رسد که کابریگولین به صورت برابر با پردنیزولون منجر به کاهش شدت بیماری و میزان ادم کف پا در رت‌های مبتلا به RA شد. با این حال کابریگولین به طور مؤثری موجب کاهش قابلیت انفجار تنفسی و هم‌چنین کاهش سطح فعالیت کلی

1-Myloperoxidase

است که بین میزان سطح سرمی NO و شدت بیماری در مبتلایان به RA ارتباط مستقیمی وجود دارد (۲۹). البته به صورت قابل توجهی نشان داده شده است که سطح سرمی NO در مبتلایان به RA هیچ‌گونه ارتباطی با مصرف ترکیب‌های حاوی نیترات به وسیله مبتلایان نداشته است (۳۰). بنابراین کاهش سطح نیتریک اکسید سرمی در فرد یا حیوان مبتلا به RA می‌تواند که به عنوان شاخص مناسبی از کاهش شدت بیماری در نظر گرفته شود. همان‌طور که در این تحقیق انتظار می‌رفت مبتلا به RA موجب افزایش سطح سرمی نیتریک اکساید شد. نتایج حاضر هم‌چنین نشان داد که کاهش سطح نیتریک اکساید در هردو گروه درمانی به صورت مشابه صورت گرفته است.

سلول‌های التهابی ارتشاح یافته به بافت مفصلی در طی بیماری RA سطوح بالای از میلوپروکسیداز (MPO)^(۱) را بیان می‌کنند. در همین راستا به خوبی نشان داده شده است که در غلظت‌های بالایی از این آنزیم در مایع سینوویال و خون افراد مبتلا به RA وجود دارد (۳۱). میلوپراکسیداز یک پروتئین آهن‌دار است که در گرانول‌های آزروفیلیک نوتروفیل‌ها و لیزوزوم‌های مونوسیت‌ها در انسان یافت می‌شود (۳۲). تولید بیش از حد اکسیدان‌های مشتق شده از MPO با آسیب بافتی در بسیاری از بیماری‌های التهابی حاد یا مزمن مرتبط است (۳۲ و ۳۱). درمان با هر دو تیمار موجب کاهش سطح میلوپراکسیداز سرمی نسبت به رت‌های مبتلا و بدون درمان شد.

فاگوسیت‌ها نسبت به پردنیزولون شد. نکته مهم‌تر آنکه کابریگولین منجر به اثرات ضد تکثیر لنفوسیتی و ایمونوساپرسیو کمتری نسبت به پردنیزولون شد. بنابراین ممکن است که کابریگولین به عنوان یک رهیافت سودمند در امر کنترل بیماری RA در نظر گرفته شود. در هر حال مطالعه مذکور، یک مطالعه مقدماتی بوده و لازم است در آینده پژوهش‌های بیشتری در این زمینه در سایر مدل‌های جانوری روماتوئید آرتروز از قبیل مدل القایی به وسیله ایمن‌سازی با کلاژن و هم‌چنین سایر مدل‌های بیماری‌های خود ایمن دیگر صورت بگیرد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه دانشجویی مقطع کارشناسی ایمونولوژی دانشگاه ارومیه می‌باشد که با حمایت مالی دانشگاه ارومیه در بخش ایمونولوژی دانشکده دامپزشکی اجرا شده است. نویسندگان از زحمات تمامی افرادی که در پیشبرد پژوهش حاضر همکاری نمودند کمال تشکر را دارند.

REFERENCES

1. Jahan Tigh M, Abtahi Froushani SM, Afzal Ahangaran N. Effect of mesenchymal stem cells treated with 17 β -estradiol on the pattern of intrinsic immunity responses in collagen-induced rheumatoid arthritis in wistar rats. *Armaghane-Danesh* 2018; 23(1): 42-56.
2. Castaneda S, Remuzgo-Martinez S, Lopez-Mejias R, Genre F, Calvo-Alen J, Llorente I, et al. Rapid beneficial effect of the IL-6 receptor blockade on insulin resistance and insulin sensitivity in non-diabetic patients with rheumatoid arthritis. *Clinical and Experimental Rheumatology* 2018; 1(1): 1-16
3. Quistrebart J, Hassler S, Bachelet D, Mbogning C, Musters A, Tak PP, et al. Incidence and risk factors for adalimumab and infliximab anti-drug antibodies in rheumatoid arthritis: A European retrospective multicohort analysis. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 2018; 12(8): 30176-8.
4. Oliveira RA, Fierro IM. New strategies for patenting biological medicines used in rheumatoid arthritis treatment. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* 2018; 28(8): 635-46.
5. Villanueva-Romero R, Gutierrez-Canas I, Carrion M, Perez-Garcia S, Seoane IV, Martinez C, et al. The Anti-Inflammatory Mediator, Vasoactive Intestinal Peptide, Modulates the Differentiation and Function of Th Subsets in Rheumatoid Arthritis. *J Immunol Res* 2018; 2018: 6043710.
6. Choudhary N, Bhatt LK, Prabhavalkar KS. Experimental animal models for rheumatoid arthritis. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 2018; 40(3): 193-200.
7. Pacheco R, Contreras F, Zouali M. The dopaminergic system in autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology* 2014; 5:117.
8. Pacheco R, Prado CE, Barrientos MJ, Bernales S. Role of dopamine in the physiology of T-cells and dendritic cells. *Journal of Neuroimmunology* 2009; 216(1-2): 8-19.
9. Pacheco R, Riquelme E, Kalergis AM. Emerging evidence for the role of neurotransmitters in the modulation of T cell responses to cognate ligands. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry* 2010; 10(1): 65-83.
10. Tolstanova G, Deng X, Ahluwalia A, Paunovic B, Prysiazhniuk A, Ostapchenko L, et al. Role of dopamine and d2 dopamine receptor in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases and Sciences* 2015; 60(10): 2963-75.
11. Zhang S, Kodama M, Hanawa H, Izumi T, Shibata A, Masani F. Effects of cyclosporine, prednisolone and aspirin on rat autoimmune giant cell myocarditis. *Journal of the American College of Cardiology* 1993; 21(5): 1254-60.
12. Wang X, He X, Zhang CF, Guo CR, Wang CZ, Yuan CS. Anti-arthritis effect of berberine on adjuvant-induced rheumatoid arthritis in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2017; 89: 887-93.
13. Zuo J, Xia Y, Li X, Chen JW. Xanthenes from *Securidaca inappendiculata* exert significant therapeutic efficacy on adjuvant-induced arthritis in mice. *Inflammation* 2014; 37(3): 908-16.
14. Abtahi Froushani SM, Delirez N, Hobbenaghi R, Mosayebi G. Synergistic effects of atorvastatin and all-trans retinoic acid in ameliorating animal model of multiple sclerosis. *Immunological Investigations* 2014; 43(1): 54-68.
15. Abtahi Froushani SMA, Gouvarchin Galee HE, Khamisabadi M, Lotfallahzade B. Immunomodulatory effects of hydroalcoholic extract of *Hypericum perforatum*. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 2015; 5(1): 62.
16. Abtahi Froushani SMA, Zarei L, Ghaleh HEG, Motlagh BM. Estragole and methyl-eugenol-free extract of *Artemisia dracunculus* possesses immunomodulatory effects. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 2016; 6(5): 526.
17. Shushtari N, Abtahi Froushani SM. Caffeine augments the instruction of anti-inflammatory macrophages by the conditioned medium of mesenchymal stem cells. *Cell Journal* 2017; 19(3): 415-24.
18. Shushtari N, Froushani SMA. Caffeine augments the instruction of anti-inflammatory macrophages by the conditioned medium of mesenchymal stem cells. *Cell Journal (Yakhteh)* 2017; 19(3): 415.
19. Pulli B, Ali M, Forghani R, Schob S, Hsieh KL, Wojtkiewicz G, et al. Measuring myeloperoxidase activity in biological samples. *PloS One* 2013; 8(7): e67976.
20. Abtahi Froushani SM, Delirez N, Hobbenaghi R, Mosayebi G. Synergistic effects of atorvastatin and all-trans retinoic acid in ameliorating animal model of multiple sclerosis. *Immunological Investigations* 2014; 43(1): 54-68.
21. Pacheco R. Targeting dopamine receptor D3 signalling in inflammation. *Oncotarget* 2017; 8(5): 7224-5.
22. Kim EY, Moudgil KD. Immunomodulation of autoimmune arthritis by pro-inflammatory cytokines.

Cytokine 2017; 98: 87-96.

23.Han X, Li B, Ye X, Mulatibieke T, Wu J, Dai J, et al. Dopamine D2 receptor signalling controls inflammation in acute pancreatitis via a PP2A-dependent Akt/NF-kappaB signalling pathway. *British Journal of Pharmacology* 2017; 174(24): 4751-70.

24.Lieberknecht V, Junqueira SC, Cunha MP, Barbosa TA, de Souza LF, Coelho IS, et al. Pramipexole, a dopamine d2/D3 receptor-preferring agonist, prevents experimental autoimmune encephalomyelitis development in mice. *Molecular Neurobiology* 2017; 54(2): 1033-45.

25.de Siqueira MB, da Mota LM, Couto SC, Muniz-Junqueira MI. Enhanced neutrophil phagocytic capacity in rheumatoid arthritis related to the autoantibodies rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptides. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2015; 16: 159.

26.Fairhurst AM, Wallace PK, Jawad AS, Goulding NJ. Rheumatoid peripheral blood phagocytes are primed for activation but have impaired Fc-mediated generation of reactive oxygen species. *Arthritis Research & Therapy* 2007; 9(2): R29.

27.Nagy G, Clark JM, Buzas E, Gorman C, Pasztoi M, Koncz A, et al. Nitric oxide production of T lymphocytes is increased in rheumatoid arthritis. *Immunology Letters* 2008;118(1): 55-8.

28.Nagy G, Koncz A, Telarico T, Fernandez D, Ersek B, Buzas E, et al. Central role of nitric oxide in the pathogenesis of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research & Therapy* 2010; 12(3): 210.

29.Weinberg JB, Lang T, Wilkinson WE, Pisetsky DS, St Clair EW. Serum, urinary, and salivary nitric oxide in rheumatoid arthritis: complexities of interpreting nitric oxide measures. *Arthritis Research & Therapy* 2006; 8(5): R140.

30.St Clair E, Wilkinson WE, Lang T, Sanders L, Misukonis MA, Gilkeson GS, et al. Increased expression of blood mononuclear cell nitric oxide synthase type 2 in rheumatoid arthritis patients. *Journal of Experimental Medicine* 1996;184(3): 1173-8.

31.Stamp LK, Khalilova I, Tarr JM, Senthilmohan R, Turner R, Haigh RC, et al. Myeloperoxidase and oxidative stress in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford, England)* 2012; 51(10): 1796-803.

32.Smallwood MJ, Nissim A, Knight AR, Whiteman M, Haigh R, Winyard PG. Oxidative stress in autoimmune rheumatic diseases. *Free Radical biology & Medicine* 2018; 125: 3-14.

33.Wu Q, Dan YL, Zhao CN, Mao YM, Liu LN, Li XM. Circulating levels of prolactin are elevated in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Postgrad Med* 2018; 20: 1-7.

34.Tang MW, Garcia S, Gerlag DM, Tak PP, Reedquist KA. Insight into the endocrine system and the immune system: a review of the inflammatory role of prolactin in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis. *Front Immunol* 2017; 23(8): 720.

35.Erb N, Pace AV, Delamere JP, Kitis GD. Control of unremitting rheumatoid arthritis by the prolactin antagonist cabergoline. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40(2): 237-9.

The Effect of Cabergoline on the Clinical and Immunological Aspects of Rheumatoid Arthritis Induced in Wistar Rats

Shaftaloud E, Abtahi Froushani SM*, Delirez N

Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 25 Nov 2018 Accepted: 17 Feb 2019

Abstract:

Background & aim: The anti-inflammatory effects of cabergoline have been documented in various studies. The purpose of the present study was to evaluate the effects of cabergoline administration (as a potent D2 agonist) on clinical aspects and immune responses in rheumatoid arthritis (RA) induced in Wistar rats.

Methods: In the present experimental study, the population consisted of 40 male Wistar rats with a weight range of 160 to 180 g. Animals were randomly allocated into four groups of 10, including the control group (healthy), RA group treated with PBS (100 mg/kg orally), RA group treated with cabergoline (50 µg/kg-orally) and ultimately RA group treated with Prednisolone (10 mg/kg orally). Changes in severity of disease and changes in temperature were recorded every three days. All treatments were initiated at day 7, after induction and observation of the first symptoms of foot inflammation in all rats. Finally, the serum of rats was isolated to evaluate the levels of nitric oxide (Griess assay) and myeloperoxidase (evaluation of the ability to the reduction of hydrogen peroxide). Spleen cells were isolated in sterile conditions in order to evaluate the lymphocyte proliferation rate (MTT reduction assay), the intensity of the respiratory burst (NBT reduction assay), and the potential of neutral red phagocytosis. Data were analyzed using Kruskal-Wallis statistical tests and one-way ANOVA and Tukey tests.

Results: The cabergoline drug was similar to prednisolone, which led to a reduction in the severity of the disease and the swelling of soles of the feet ($p=0.15$). The serum levels of nitric oxide ($p=0.0001$) and myeloperoxidase ($p=0.0001$), the intensity of the respiratory burst of splenic phagocytic cells ($p=0.002$) and the proliferation rate of splenic lymphocytes ($p=0.02$) were significantly decreased in both treatment groups. Prednisolone indicated a more profound effect than cabergoline in reducing the lymphocyte proliferative index ($p=0.001$), while cabergoline effectively reduced respiratory burst activity ($p=0.002$). Moreover, cabergoline significantly revealed a more profound effect than prednisolone in reducing the increased levels of neutral red uptake by splenic phagocytic cells ($p=0.01$).

Conclusion: Considering the appropriate results in the animal model, the use of cabergoline may be considered as a useful approach to control RA.

Keywords: Rheumatoid Arthritis, Cabergoline, Prednisolone, Wistar Rat

Corresponding author: Abtahi Froushani SM, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Email: sm.abtahi@urmia.ac.ir

Please cite this article as follows:

Shaftaloud E, Abtahi Froushani SM, Delirez N. The Effect of Cabergoline on The Clinical and Immunological Aspects of Rheumatoid Arthritis Induced in Wistar Rats. *Armaghane-danesh* 2019; 24(1): 1-16